Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zweiundsechzigster Band.





Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1914.




F.G.KOSTER·BOEKBINDER


LEESMUSEUM
AMSTERDAM

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Zweiundsechzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1914.



Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.



Beiträge zur Frage der Glykolyse. IV.

Von

P. Rona und G. G. Wilenko.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 11. März 1914.)

I.

Bei unseren Versuchen über den Zuckerverbrauch des überlebenden Kaninchenherzens[1]) haben wir Gelegenheit gehabt, den großen Einfluß der Reaktion (der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration) der Durchspülungsflüssigkeit auf das glykolytische Vermögen des Herzmuskels zu beobachten. Es ergab sich, daß schon geringe Abweichungen der Reaktion des Mediums von der physiologischen nach der sauren Seite, Variationen, die bereits durch den wechselnden Gehalt der Flüssigkeit an Kohlensäure bedingt sein können, genügen, um den Zuckerverbrauch des arbeitenden Herzens bedeutend herabzudrücken. Da diese ungünstige Wirkung von sauren Reaktionen, die im Organismus noch durchaus vorkommen können, auf die Zuckerzerstörung von allgemeiner Bedeutung ist, untersuchten wir, ob und wie weit die Glykolyse im Blute von $H^{\cdot}$-Ionenkonzentrationen, die höher sind als die normalerweise im Blute vorhandenen, beeinflußt wird.

Frühere Untersuchungen von Rona und Döblin[2]) hatten bereits gezeigt, daß ständige Durchleitung von Kohlensäure durch das Blut dessen glykolytisches Vermögen aufhebt, beziehungsweise sehr stark schwächt. So wurde beispielsweise gefunden, daß während die Zuckerverluste nach sechsstündiger Glykolyse bei 37° im normalen Blut (in je 20 ccm) mit dem Zuckergehalt von 74,73,

---

[1]) Diese Zeitschr. 59, 173.

[2]) Diese Zeitschr. 32, 489.

85,64, 84,61 mg beziehungsweise 35,10, 21,79, 40,94 mg betrugen, sich bei ständiger CO_2-Durchleitung die entsprechenden Verluste nur auf 1,43, 7,43, 3,78 mg beliefen.

Eine ganz bedeutende Hemmung der Glykolyse war in allen Fällen zu konstatieren.

Um eine genauere Einsicht in die hier obwaltenden Verhältnisse zu gewinnen, verfuhren wir bei unseren jetzigen Versuchen folgendermaßen: Zu dem steril entnommenen, mit sterilen Glasperlen defibrinierten Blut von Menschen, von Kaninchen und von Hunden hatten wir zunächst, um größere Ausschläge im Zuckerumsatz zu erzielen, eine bestimmte Menge Traubenzucker zugesetzt. Die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Blutes erhöhten wir dann durch Zugabe einer (in den einzelnen Ver-

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	Datum	Blutart und -menge	Zugesetzte n-Essigsäure ccm	Zugesetzte n-Natr.-Acetat ccm	Dauer der Glykolyse (37°)	Zuckergehalt d. Flüssigkeit vor der Glykolyse %	Zuckergehalt d. Flüssigkeit nach der Glykolyse %	Zersetzter Zucker pro 100 mg Blut und Stunde mg	Wasserstoffionenkonzentration p_H	Bemerkungen
1	23. I.	Kaninchen	1,50	—	1h 15′	0,250	0,250	0	5,09	
		17 ccm	—	1,50	1h 15′	0,250	0,200	40	7,93	
2	28.	Kaninchen	1,00	—	1h 30′	0,190	0,200	0	6,32	
		22 ccm	—	0,10	1h 30′	0,190	0,130	40	7,87	
3	29.	Kaninchen	0,75	—	1h 45′	0,245	0,245	0	6,23	
		19 ccm	—	0,75	1h 45′	0,245	0,195	28,5	8,04	
4	30.	Kaninchen	0,60	—	1h 45′	0,190	0,190	0	6,79	
		25 ccm	—	0,60	1h 45′	0,190	0,155	20	7,76	
5	2. II.	Kaninchen	0,50	—	2h 30′	0,215	0,165	20	6,99	
		25 ccm	—	0,30	2h 30′	0,210	0,135	30	7,87	
6	3.	Kaninchen	0,50	—	2h 15′	0,210	0,155	24,5	7,00	p_H nach dem
		20,5 ccm	—	0,25	2h 15′	0,195	0,110	37,8	7,85	Versuch: 7,32
7	6.	Kaninchen	0,65	—	2h 30′	0,245	0,235	Spuren	6,63	p_H nach dem
		19,5 ccm	—	0,35	2h 30′	0,245	0,195	20		Versuch: 6,67
8	9.	Kaninchen	0,60	—	3h 00′	0,230	0,220	Spuren	6,79	p_H nach dem
		20 ccm	—	0,30	3h 00′	0,230	0,175	18,3		Versuch: 6,93
9	11.	Mensch	0,60	—	3h 00′	0,265	0,265	0	6,69	
		20 ccm	—	0,30	3h 00′	0,265	0,175	30		
10	19.	Mensch	1,00	—	2h 45′	0,335	0,320	6	6,72	
		25 ccm	—	1,00	2h 45′	0,375	0,280	34,5		
11	23.	Mensch	1,30	—	2h 45′	0,315	0,315	0	6,19	
		25 ccm	—	1,30	2h 45′	0,315	0,255	22		

Tabelle II.

Versuchs-Nr.	Datum	Blutart und -menge	Zugesetzte 1,5 n-prim. Kalium-phosphat ccm	Zugesetzte 1 n-Phosphatgemisch (1 pr. 8 sek.) ccm	Dauer der Glykolyse (37°)	Zuckergehalt d. Flüssigkeit vor der Glykolyse %	Zuckergehalt d. Flüssigkeit nach der Glykolyse %	Zersetzter Zucker pro 100 ccm Blut und Stunde mg	Wasserstoff-ionenkonzen-tration p_H	Bemerkungen
12	12. II.	Mensch	1,0	—	2h 45′	0,275	0,240	12	6,69	
		25 ccm	—	1,0	2h 45′	0,260	0,170	33		
13	12.	Mensch	1,5	—	2h 45′	0,275	0,270	0	6,50	
		25 ccm	—	1,0	2h 45′	0,260	0,170	33		
14	13.	Mensch	0,6	—	3h 00′	0,220	0,220	0	6,90	25 ccm Blut
			—	1,0	3h 00′	0,280	0,190	30	7,65	20 ccm Blut
15	13.	Mensch	1,0	—	3h 00′	0,220	0,220	0	6,79	25 ccm Blut
			—	1,0	3h 00′	0,280	0,190	30	7,65	20 ccm Blut
16	16.	Hund	0,5	—	3h 00′	0,315	0,230	28	7,10	
		25 ccm	1,0	—	3h 00′	0,315	0,265	17	6,77	
17	18.	Mensch	0,5	—	2h 45′	0,265	0,230	13	7,05	p_H nach dem Versuch: 7,24
		25 ccm	—	1,0	2h 45′	0,265	0,165	36,5		
18	19.	Mensch	1,2	—	2h 45′	0,265	0,230	13	6,67	p_H nach dem Versuch: 6,92
		25 ccm	—	1,5	2h 45′	0,265	0,165	36,5		
19	25.	Mensch	2,0	—	2h 45′	0,285	0,255	10	6,44	
		25 ccm	—	2,5	2h 45′	0,285	0,220	24		

suchen näher angegebenen) Menge von Essigsäure oder von primärem Natriumphosphat. Eine Hämolyse trat in keiner der Proben ein. Die Kontrollproben wurden mit einer entsprechenden Menge Natriumacetat, bzw. mit einem Gemisch von primärem und sekundärem Natriumphosphat von Blutalkalescenz versetzt, so daß die zu vergleichenden Proben in bezug auf Acetat bzw. Phosphat nicht nennenswert verschieden waren. Die H˙-Ionenkonzentration wurde nach dem Säurezusatz sofort elektrometrisch gemessen, in einzelnen Fällen auch am Ende des Versuchs, um eine etwaige Änderung der Reaktion während des Versuchs festzustellen. Die Versuchsdauer wurde, um jeden störenden Einfluß einer Bakterienentwicklung auszuschließen, möglichst kurz, auf etwa 2 bis 3 Stunden bemessen. Die Zuckerbestimmung erfolgte nach Enteiweißung des Blutes mit kolloidalem Eisenhydroxyd nach Michaelis und Rona mittels der Bertrandschen Methode.

Die Versuche sind in Tabelle I und II zusammengestellt.

Aus der Gesamtheit dieser Versuche ergibt sich, daß — in Übereinstimmung mit dem Befund am Herzmuskel — bei der Glykolyse im Blut eine erhöhte H˙-Ionenkonzentration die Fermenttätigkeit ungünstig beeinflußt. Bei H˙-Ionenkonzentrationen von etwa 4 bis $6 \cdot 10^{-7}$ war in keinem der Fälle eine Glykolyse nachweisbar, bei einer von 2 bis $3 \cdot 10^{-7}$ ist sie gegen die Norm deutlich herabgesetzt. In einzelnen Versuchen war sogar bei dieser Reaktion während der Dauer des Versuchs keine sichere Glykolyse zu konstatieren, Unterschiede, die möglicherweise auf wechselnde Widerstandsfähigkeit des Fermentes unter besonderen Verhältnissen zurückzuführen sind.

Bei H˙-Ionenkonzentrationen, die der Blutreaktion entsprechen — also bei einer schwach alkalischen Reaktion —, geht die Glykolyse anscheinend am besten vor sich. Auf die günstige Wirkung einer alkalischen Reaktion auf die Glykolyse haben bereits früher Lépine, Levene u. a. hingewiesen.

Auch das glykolytische Ferment im Blute wird demnach bereits durch eine ganz schwach saure Reaktion in seiner Wirkung geschädigt. Während wir in unseren Versuchen für das normale Blut (mit etwa $0{,}35 \cdot 10^{-7}$) eine Zuckerzerstörung von ca. 30 mg pro 100 ccm Blut und Stunde fanden, betrug diese, um einige Beispiele hervorzuheben, im Versuch 18 bei einer H˙-Ionenkonzentration von $2{,}1 \cdot 10^{-7}$ nur 13 mg, im Versuch 19 bei einer H˙-Ionenkonzentration von $3{,}6 \cdot 10^{-7}$ nur 10 mg. Dies konnte sowohl bei Essigsäure- als bei Phosphatzusatz beobachtet werden, trotz der im allgemeinen günstigen Wirkung der Phosphate auf die Glykolyse. Wie ersichtlich, war eine Glykolyse jedoch in mehreren Versuchen nicht nur bei einer (schwach) alkalischen, sondern auch bei neutraler und schwach saurer Reaktion vorhanden.

In manchen Darstellungen über Glykolyse begegnet man noch immer der Vorstellung, die Glykolyse beruhe im wesentlichen auf einer Alkaliwirkung. Demgegenüber ist es fast überflüssig, zu betonen, daß die fermentative Natur der Glykolyse über allen Zweifel gesichert ist. Das Fehlen der Glykolyse im Serum, obgleich dessen Reaktion mit der des Blutes (fast) vollkommen übereinstimmt, die Rolle der Formelemente des Blutes bei der Glykolyse, die lähmende Wirkung von Spuren von NaF, die die Reaktion des Mediums nicht im mindesten ändern, die

Unterschiede der glykolytischen Kraft bei den verschiedenen Tierarten wie auch die Schwankungen der glykolytischen Fähigkeit bei einem und demselben Individuum (trotz der außerordentlichen Konstanz der Blutreaktion), die Vernichtung der Glykolyse durch hohe Temperaturen beweisen die fermentative Natur des Prozesses zur Genüge. — Andererseits zeigen die Untersuchungen von Michaelis und Rona[1]), daß bei den in dem Blute vorhandenen $H^{\cdot}$- resp. $OH^{\cdot\cdot}$-Ionenreaktionen bei 37° selbst bei Durchleitung von Luft oder Sauerstoff durch die Flüssigkeit während der Dauer eines glykolytischen Versuches, also etwa in 12 bis 15 Stunden, keine Zuckerzerstörung eintritt. Ist also eine „Alkaliwirkung" in dem Sinne bei der Glykolyse auszuschließen, so spielt, wie wir oben zeigen konnten, die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Mediums eine sehr wesentliche Rolle. Ähnlich wie z. B. beim Trypsin eine ganz bestimmte alkalische ($[H^{\cdot}]$ ca. 10^{-8}), beim Pepsin eine ganz bestimmte saure ($[H^{\cdot}]$ ca. 10^{-2}) Reaktion, so ist für das glykolytische Ferment eine der Blutreaktion entsprechende Reaktion zur Entfaltung der optimalen Wirkung erforderlich. Es wird sicher niemandem einfallen, das Vorhandensein von Trypsin oder von Pepsin zu leugnen und deren Wirkung auf die alkalische bzw. saure Reaktion zu schieben. Anders liegen die Verhältnisse beim glykolytischen Ferment aber auch nicht[2]).

Die Schädigung des Fermentes durch die erhöhte $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration ist eine reversible. Dies zeigen die folgenden Versuche, bei denen je zwei Proben zuerst mit einer bestimmten Menge Säure (Essigsäure, primäres Phosphat) versetzt worden

---

[1]) Diese Zeitschr. 23, 364; ferner: Über die Umlagerung der Glucose bei alkalischer Reaktion, ein Beitrag zur Theorie der Katalyse. Ebenda 47, 447. Vgl. auch Rona und Döblin, l. c.

[2]) Wenn W. Löb (diese Zeitschr. 29, 318, 1910) sagt: „Es ist sehr gut möglich, daß die Angreifbarkeit des Zuckers durch Hydroxylionen, die in so verdünnten Lösungen [wie das Blut], wenn auch äußerst schwach, so doch sicher vorhanden ist, durch die im Blute gelösten Stoffe eine katalytische Beschleunigung erfährt, eine Beschleunigung, die bei Fehlen solcher katalytisch wirksamen Stoffe nur durch eine höhere Alkalescenz erreicht wird", so ist nichts dagegen einzuwenden. Die hier in Betracht kommenden „katalytisch wirksamen Stoffe" sind eben fermentativer Natur und müssen als „glykolytisches Ferment" bezeichnet werden.

waren, dann eine der Proben nach $^1/_2$ stündigem Verweilen im Brutschrank durch Zusatz der berechneten Menge NaOH auf Blutreaktion gebracht und weiter ebenso lange (ca. 3 Stunden) im Brutschrank gelassen worden ist, wie eine dritte Probe mit normalem Blut vom selben Zuckergehalt. Es ergab sich, daß die Probe, bei der die Blutreaktion nachträglich hergestellt worden war, die Glykolyse in demselben Ausmaße zeigte wie im Normalversuch.

Tabelle III.

Versuchs-Nr.	Datum	Blutart und -menge	Angesäuert mit	Nach $^1/_2$ stündiger Glykolyse zugesetzt	Zur Kontrolle zugesetzt	Dauer der Glykolyse	Zuckergehalt d. Flüssigkeit vor der Glykolyse %	Zuckergehalt d. Flüssigkeit nach der Glykolyse %	Zuckerverlust pro 100 ccm Blut u. Stunde mg	Wasserstoffionenkonzentration p_H
20	19. II.	Mensch 25 ccm	1,0 ccm n-Essigsäure	—	—	2h 45′	0,335	0,320	6	6,72
			1,0 ccm n-Essigsäure	0,8 ccm n-NaOH	—	2h 45′	0,335	0,265	26	vor: 6,62 nach: 7,71
			—	—	1 ccm n-Natriumacetat	2h 45′	0,375	0,280	34,5	
21	23. II.	Mensch 25 ccm	1,3 ccm n-Essigsäure	—	—	2h 45′	0,315	0,315	0	6,19
			1,3 ccm n-Essigsäure	0,85 ccm n-NaOH	—	2h 45′	0,315	0,255	22	vor: 6,19 nach: 8,00
			—	—	1,3 ccm n-Natriumacetat	2h 45′	0,315	0,255	22	
22	25. II.	Mensch 25 ccm	2 ccm 1,5 n prim. Kaliumphosphat	—	—	2h 45′	0,285	0,255	10	6,44
			2 ccm 1,5 n prim. Kaliumphosphat	1,0 ccm n-NaOH	—	2h 45′	0,285	0,220	24	vor: 6,44 nach: 7,45
			—	—	2,5 ccm 1 n-Phosphatgemisch 1 prim., 8 sek.	2h 45′	0,285	0,220	24	

Im allgemeinen gewinnen wir bei unseren Versuchen den Eindruck, als ob das glykolytische Ferment im Herzmuskel gegen eine erhöhte H˙-Ionenkonzentration empfindlicher wäre als im Blute, namentlich eine kürzer dauernde Einwirkung einer höheren H˙-Ionenkonzentration bereits schädlich wirken würde. Doch lassen sich genau quantitativ vergleichende Versuche in dieser Richtung schwer anstellen.

Auch für das glykolytische Ferment des Blutes konnten wir demnach den ungünstigen Einfluß höherer Aciditäten nach-

weisen. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß bei der außerordentlichen Konstanz der H˙-Ionenkonzentration des Blutes eine wenn auch geringe Schwankung dieses Faktors selbst in pathologischen Fällen nur äußerst selten — wenn eben die Regulationsmechanismen durch Lunge und Niere nicht mehr ausreichen — vorkommt. Das prinzipiell gleiche Verhalten des glykolytischen Fermentes im Herzmuskel und im Blut ist trotzdem von nicht geringer Bedeutung. Sind doch die Eigenschaften dieses Fermentes im Blute verhältnismäßig noch am einfachsten zu studieren. Zweifellos kommen Reaktionen, die schon als schädlich gefunden worden sind, in den Geweben vor. Die H˙-Ionenkonzentration des Gewebes ist nach neueren Untersuchungen von Michaelis schon unter normalen Verhältnissen höher als die des Blutes. Bereits in der eingangs zitierten Publikation haben wir darauf hingewiesen, daß bei Diabetesformen mit reichlicher Produktion stark saurer Körper hohe Aciditäten in den Geweben angenommen werden müssen. Hierin können wir demnach zumindest eine Quelle eines geringeren Zuckerverbrauches erblicken. Wieweit dieser Faktor in den verschiedenen Diabetesarten als ein primärer oder als ein sekundärer in Betracht kommt, müssen noch weitere Untersuchungen lehren. Es muß auch darauf hingewiesen werden, daß die Glykolyse im Blute sicher nur einen Bruchteil der Glykolyse in den Geweben ausmacht[1]).

II.

Eine weitere Frage von Interesse ist die Abhängigkeit der Stärke der Glykolyse von der anfänglichen Zuckerkonzentration. Vor einigen Jahren haben Rona und Döblin einige orientierende Versuche in dieser Richtung angestellt, die der Vollständigkeit halber hier angeführt sein mögen (s. Tabelle IV).

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß sehr hohe Zuckerkonzentrationen die Glykolyse hemmen, während die absolute Menge des zerstörten Zuckers bis zu einer gewissen Zuckerkonzentration mit dieser wächst[1]).

---

[1]) Vgl. hierzu auch J. J. Macleod, Journ. of Biolog. Chem. 15, 497

Tabelle IV.

In diesen Versuchen wurde von je 20 ccm Blut vom Menschen im Brutschrank während 15 Stunden die folgende Zuckermenge zerstört:

Vers.-Nr.	Zuckermenge			
	sofort mg	nach 15 Std. mg	Verlust mg	Verlust %
23	29,46	0,00	29,46	100
	52,73	0,00	52,73	100
	76,16	26,66	55,50	73
	122,76	56,07	66,69	54
24	41,28	11,17	30,11	78
	63,08	25,42	37,66	62
	106,38	76,69	29,69	30
	193,58	170,96	22,62	11
25	69,89	37,46	32,43	47
	116,49	75,31	41,18	35

Systematische Untersuchungen über den Einfluß der Zuckerkonzentration auf die Zuckerzerstörung im Blute hat Vandeput[1]) angestellt. Aus seinen Untersuchungen folgt ebenfalls, entsprechend dem Umsatz einer monomolekularen Reaktion, daß die Steigerung der Zuckerkonzentration bis zu einer gewissen Höhe die absolute Menge des zerstörten Zuckers vermehrt. Wir haben dieses Verhalten, wie aus den nebenstehenden Versuchen (Tabelle V) ersichtlich ist, in Übereinstimmung mit den früheren Untersuchungen wiederum beobachten können. Alle Versuche verliefen bei 37°.

Bis etwa zu 0,5% Zucker finden wir demnach eine absolute Vermehrung des Zuckerverbrauches. Daraus würden sich gewisse Konsequenzen für das Problem der Zuckerzerstörung beim Diabetes ergeben. Auch bei einer verminderten glykolytischen Fermenttätigkeit würde sich der höheren Blutzuckerkonzentration entsprechend — gewissermaßen kompensatorisch — eine gegen die Norm absolut nicht (nur prozentuell) verminderte Zuckerzerstörung ergeben. Die fermentative Arbeit wäre nur weniger ökonomisch, denn zur Erzielung desselben Zuckerumsatzes wären höhere Zuckerkonzentrationen erforderlich. Zu einer ähnlichen Auffassung der Verhältnisse kam auch Wilenko[2]) auf Grund von Respirationsversuchen bei seinen Unter-

[1]) Arch. internat. de Phys. **9**, 292, 1910. Vgl. hierzu A. Kanitz, Biochem. Centralbl. **10**, 744, 1910 und diese Zeitschr. **57**, 437, 1913.

[2]) Diese Zeitschr. **42**, 44.

Tabelle V.

Versuchs-Nr.	Datum	Blutart und -menge	Zugesetzte Traubenzuckerlösung	Zuckergehalt der Lösung in % vor der Glykolyse				Dauer der Glykolyse	Zuckergehalt der Lösung nach der Glykolyse	Verlust an Zucker	
				0,1–0,3	0,3–0,5	0,5–0,9	ca. 1,0		%	mg	%
26	21. I.	Kaninch. 20 ccm	0,1 ccm 10%	0,100	—	—	—	1h 30′	0,052	48	48,0
			0,3 ccm 10%	0,250	—	—	—	1h 30′	0,160	90	36,0
27	26. II.	Mensch 20 ccm	0,2 ccm 10%	0,225	—	—	—	2h 30′	0,180	45	20,0
			0,8 ccm 10%	—	—	0,525	—	2h 30′	0,490	35	7,0
			0,8 ccm 20%	—	—	—	0,915	2h 30′	0,915	0	0,0
28	27. II.	Mensch 20 ccm	0,1 ccm 10%	0,110	—	—	—	5h	0,070	40	36,3
			0,4 ccm 10%	0,253	—	—	—	5h	0,175	78	30,8
			0,7 ccm 10%	—	0,384	—	—	5h	0,300	84	22,8
			1,0 ccm 10%	—	—	0,514	—	5h	0,375	139	27,0
29	2. III.	Mensch 25 ccm	0,1 ccm 10%	0,100	—	—	—	5h	0,050	50	50,0
			0,7 ccm 10%	—	0,325	—	—	5h	0,230	95	30,0
			0,7 ccm 20%	—	—	0,525	—	5h	0,460	65	13,0
			1,0 ccm 20%	—	—	0,700	—	5h	0,655	45	6,5
30	3. III.	Mensch 24 ccm	0,1 ccm 20%	0,175	—	—	—	5h	0,125	50	29,0
			1,0 ccm 20%	—	—	0,785	—	5h	0,745	40	5,0
31	4. III.	Mensch 18 ccm	0,1 ccm 20%	0,200	—	—	—	5h	0,130	70	35,0
			0,2 ccm 20%	—	0,315	—	—	5h	0,205	110	34,5
			1,0 ccm 20%	—	—	—	1,100	5h	0,980	112	10,3
			1,5 ccm 20%	—	—	—	1,550	5h	1,475	75	5,0

suchungen über die Wirkung des Adrenalins auf die Kohlenhydratverbrennung. Weiterhin ergibt sich auch aus den Versuchen, daß ein Vergleich des glykolytischen Fermentes bei normalen und bei diabetischen Individuen nur bei gleichen Zuckerkonzentrationen zu verwertbaren Ergebnissen führen kann.

Zusammenfassung.

Die ungünstige Wirkung höherer H˙-Ionenkonzentrationen konnte in Übereinstimmung mit den Befunden an isolierten Kaninchenherzen auch bei der Glykolyse im Blut (bei Menschen und bei Kaninchen) nachgewiesen werden. Bei einer H˙-Ionenkonzentration von etwa 4 bis $6 \cdot 10^{-7}$ war die Zuckerzerstörung aufgehoben, bei einer von ca. 2 bis $3 \cdot 10^{-7}$ bereits stark geschwächt. Wird die H˙-Ionenkonzentration nachträglich auf die des Blutes gebracht, so entfaltet das Ferment seine Wirkung wieder ungeschwächt. Diese Tatsachen stützen die Auffassung, daß bei der diabetischen Acidosis eine Erhöhung der

H'-Ionenkonzentration in den Geweben in ursächlichen Zusammenhang mit dem verminderten Zuckerverbrauch gebracht werden kann. — Hohe Zuckerkonzentration bewirkt, entsprechend dem monomolekularen Verlauf der Reaktion, zunächst — bis zu etwa 0,5 $^{0}/_{0}$ — eine Zunahme der absoluten Menge an zerstörtem Zucker. Bei noch höherer — schon bei ca. 1 $^{0}/_{0}$ — ist die Glykolyse stark gehemmt. Auf den Kohlenhydratstoffwechsel beim Diabetes können daraus gewisse Schlüsse gezogen werden.

Untersuchungen über die Einwirkung der Opiumalkaloide auf gewisse Hyperglykämien.

Von

Kj. Otto af Klercker.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund [Schweden]).

(Eingegangen am 14. März 1914.)

Mit 7 Figuren im Text.

Einleitung.

Die Fähigkeit des Opiums, auf die diabetische Glucosurie des Menschen herabsetzend zu wirken, kann nunmehr als allgemein anerkannt betrachtet werden. Dagegen sind wir noch sehr wenig darüber unterrichtet, wie diese Wirkung zustande kommt. Meistens begnügt man sich wohl mit dem Hinweis auf die bekannten sedativen Wirkungen des Opiums auf das Nervensystem. Man meint, es handle sich um eine Abstumpfung derjenigen nervösen Irritation, die so oft als ein wichtiges Moment bei der Entstehung eines Diabetes mellitus betrachtet wird. Aber auch bei gewissen experimentellen Glucosurien hat man eine vermindernde Wirkung des Opiums beobachtet, so bei der Diuretinglucosurie des Kaninchens [Richter[1])], der Phlorizinglucosurie und dem Pankreasdiabetes des Hundes [Gigon[2]) u. a.]. Da Richter beim opiumbehandelten Tiere den Glykogengehalt der Leber nur unbedeutend vermindert und den Blutzuckergehalt 2 Stunden nach der Diuretininjektion nur wenig oder gar nicht vermehrt fand, schloß er, daß das Opium die Zuckerbildung in der Leber herabsetze, und daß die antiglucosurische Wirkung hierin zu suchen sei. Gigon meint, es liege sehr nahe anzunehmen, daß der Angriffsort des Opiums

[1]) Richter, Zeitschr. f. klin. Med. 36, 156, 1899.

[2]) Gigon, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1909, S. 441.

sowohl bei menschlichem Diabetes mellitus als dem Pankreasdiabetes und der Phlorizinglucosurie des Hundes der gleiche sei, und als solcher komme „die Leber an erster Stelle in Betracht".

Wenn wir von drei einzelnen Blutzuckerbestimmungen Richters absehen, liegen übrigens, so viel ich weiß, keine Untersuchungen über den Einfluß des Opiums auf den Blutzucker vor. Als festgestellt können wir also höchstens dies betrachten, daß das Opium auf gewisse Formen von Glucosurie herabsetzend wirken kann. Es scheint mir aber ziemlich verfrüht, über den Angriffsort der Opiumwirkung diskutieren zu wollen, ehe wir über das Verhalten des Blutzuckers nicht näher orientiert sind. A priori ließen sich doch zwei Hauptmöglichkeiten denken. Entweder könnte es sich um eine Vermehrung der sog. Zuckerdichtigkeit der Nieren bei ungeänderter oder vielleicht erhöhter Lage des Blutzuckerspiegels handeln — hierfür ließe sich ja die Wirkung bei der Phlorizinglucosurie anführen —, oder um eine Herabsetzung derjenigen Hyperglykämie, die die Voraussetzung der meisten anderen Glucosurien bildet. Durch eine Untersuchung über die Einwirkung des Opiums auf den Blutzuckergehalt sowohl bei Diabetes mellitus als bei experimentellen Hyperglykämien habe ich darum geglaubt, einen Beitrag zu einer näheren Kenntnis der in Rede stehenden Opiumwirkungen liefern zu können. In dieser Beziehung habe ich also die Hyperglykämie nach Adrenalininjektion, Piqûre und nach Glucosezufuhr per os untersucht. Die Resultate dieser experimentellen Untersuchungen folgen nachstehend, während ich den Bericht meiner noch nicht völlig abgeschlossenen Untersuchungen an Diabetespatienten für eine spätere Publikation vorbehalte.

Bemerkungen zur Methodik.

Zur Bestimmung des Blutzuckers habe ich die Mikromethode Bangs verwendet und bin hierbei den ursprünglichen Vorschriften des Verfassers unverändert gefolgt [1]). Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Blutproben wurden immer kurz vor und mit gewissen Intervallen während 5 bis 9 Stunden nach den betreffenden Eingriffen genommen. Während der ersten drei

[1]) Bang, Der Blutzucker. Wiesbaden 1913, S. 20.

Stunden wenigstens wurde eine Blutprobe jede halbe Stunde, in gewissen Versuchen sogar jede Viertelstunde, später nur jede Stunde genommen. Die Tiere bekamen während der Dauer des Versuchs keine Nahrung. Im allgemeinen wurden mindestens 100 mg Blut abgewogen, und in meinen ersten Serien nahm ich jedesmal zwei Proben. In den späteren Serien habe ich mich indessen mit Einzelbestimmungen begnügt, außer bei der Untersuchung vor dem Haupteingriffe (Adrenalininjektion, Piqûre, Glucosezufuhr), wo beinahe immer Doppelbestimmungen gemacht wurden.

Die Differenz zweier zusammengehöriger Bestimmungen betrug bei meinen sämtlichen 163 Doppelbestimmungen durchschnittlich 0,014 %.

In den allermeisten Versuchen wurde auch der Harn auf Zucker untersucht. Vor dem Beginn des Versuchs wurde das Tier katheterisiert. Aus äußeren Gründen war es mir indessen nicht möglich, während der Dauer des Versuchs die Blase in regelmäßigen Intervallen zu entleeren, der Harn wurde darum auch oft spontan gelassen und in einem Gefäß unter dem Käfig aufgesammelt. Wenn möglich, wurde jede einzelne Harnportion für sich untersucht. Wenn die Menge genügend groß war, machte ich immer zuerst eine qualitative Reduktionsprobe mittels Almenscher Lösung. Wenn diese negativ ausfiel, wurde der Harn als zuckerfrei betrachtet, bei positiver Almenscher Probe wurde die Zuckermenge durch Titrierung bestimmt. War die Harnmenge nur sehr gering, wurde sofort titriert und der Harn als zuckerfrei betrachtet, sobald der Wert niedriger als 0,05 % war. Immer wurde nach Bangs neuer Makromethode[1]) titriert und der Harn vorher mit Tierkohle und Alkohol nach Bang entfärbt.

Versuche mit den Opiumalkaloiden allein.

(Tinct. opii und Pantopon.)

Bekanntlich tritt bei Morphiumvergiftungen nicht selten Zucker im Harn auf. Nach den Untersuchungen Luzzattos[2]) wird Glucosurie jedoch bei Tieren nur nach sehr großen Mor-

---

[1]) Bang, diese Zeitschr. **49**, 1, 1913.

[2]) Luzzatto, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **52**, 95, 1905.

phiumgaben hervorgerufen, beim Hunde sind hierzu im allgemeinen 4 bis 5 cg pro Kilogramm Körpergewicht und bei Kaninchen noch größere Mengen erforderlich. Luzzatto hat auch gezeigt, daß diese Glucosurie von einer Hyperglykämie bedingt ist. Bevor man an die Untersuchung des Einflusses des Opiums auf verschiedene Arten von Hyperglykämie herantreten konnte, mußte es darum in Erfahrung gebracht werden, wie weit man mit den Opiumgaben steigen könnte, ohne daß irgendeine stärkere Erhöhung des Blutzuckergehaltes zustande käme.

In meinen ersten diesbezüglichen Versuchen benutzte ich Tinct. opii, die in der Regel per rectum, mit Wasser ad 5 ccm verdünnt, eingegeben wurde (Tabelle I).

Tabelle I.

Nummer des Tieres	3	3	2	5	4	2
Gewicht und Ernährungszustand	2500 g wohlgenährt	1900 g 3 Tage Hunger	2400 g wohlgenährt	1700 g 4 Tage Hunger	1750 g 4 Tage Hunger	2000 g wohlgenährt
Blutzucker, präformiert	0,09 %	0,07 %	0,09 %	0,07 %	0,10 %	0,06 %
Zufuhr von Tinct. opii	1 ccm per rectum	1 ccm per rectum	2 ccm per rectum	3 ccm per rectum	5 ccm + 3 g Galaktose per os	1 ccm subcutan
Blutzucker ½ Std. nachher	0,10 %	0,09 %	0,11 %	0,07 %	0,13 %	0,10 %
„ 1 „ „	0,10	0,11	0,10	0,11	0,16	0,15
„ 1½ „ „	0,10	0,09	0,11	0,11	0,17	0,15
„ 2 „ „	0,11	0,09	0,11	0,12	0,17	0,17
„ 2½ „ „	0,09	0,09	0,17	0,17	0,15	0,14
„ 3 „ „	0,11	0,10	0,13	0,17	0,16	0,14
„ 3½ „ „	—	—	0,08	0,16	—	—
„ 4 „ „	0,12	0,11	—	—	0,15	0,17
„ 4½ „ „	—	—	0,09	0,14	—	—
„ 5 „ „	0,11	0,09	—	—	0,12	0,15
„ 5½ „ „	—	—	0,09	0,14	—	—
„ 6 „ „	0,09	0,09	—	—	0,11	0,15
„ 6½ „ „	—	—	0,11	0,13	—	—
„ 7 „ „	—	0,11	—	—	0,11	0,11
„ 7½ „ „	—	—	—	0,10	—	—
„ 8 „ „	—	0,10	—	—	—	—
Harnzucker	—	—	—	—	0,32 g	—

Nach 1 ccm Tinct. opii per rectum, die kleinste verwendete Menge, wurde keine Änderung der Zuckerkonzentration bewirkt, 2 ccm Tinct. opii per rectum ist indessen genügend, um eine

deutliche Steigerung des Blutzuckers hervorzubringen, die sich jedoch erst nach $2^1/_2$ Stunden zeigt und von sehr kurzer Dauer ist; schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde ist sie vorüber. Nach 3 ccm tritt ebenfalls eine Steigerung nach $2^1/_2$ Stunden ein, dauert aber nun länger, ungefähr 3 bis 4 Stunden. In keinem der Fälle war Zucker im Harn vorhanden. Schließlich wurde einem Tiere 5 ccm Tinct. opii in 100 ccm Wasser per Magensonde gereicht. Es war dem Tiere nicht möglich, so viel Tinktur im Rectum zurückzuhalten. Dieser Versuch ist insofern nicht ganz einwandfrei, als das Opium zusammen mit 3 g Galaktose verabreicht wurde. Dieser Zucker bewirkt indessen, wie Bang[1]) gezeigt hat, nur eine sehr unbedeutende Erhöhung des Blutzuckergehalts, und wird schnell mit dem Harne wieder ausgeschieden. In zwei Versuchen mit je 2 g Galaktose bekam Bang eine maximale Erhöhung in dem einen Versuche von 0,02 $^0/_0$ (also kaum außerhalb der Fehlergrenze), in dem anderen von 0,05 $^0/_0$. In beiden Fällen war die Steigerung schon nach $1^1/_2$ Stunden vorüber. Es ist darum auch wohl möglich, daß die Hyperglykämie in meinem letzterwähnten Falle während der ersten Stunden hauptsächlich von der Galaktose bedingt sei. Jedenfalls sehen wir, daß auch 5 ccm Tinct. opii per os höchstens eine ganz unbedeutende Hyperglykämie habe herbeiführen können, die nach 5 bis 6 Stunden völlig vorüber ist. Die Glucosurie hat in diesem Falle selbstverständlich ihre Ursache in der Galaktose.

Die Kombination mit Galaktose in diesem Versuche wurde in der Nebenabsicht gemacht, um zu sehen, ob, falls das Opium irgendwelche spezielle Wirkung auf die Nieren besäße, dies sich möglicherweise in einer mehr oder weniger vollständigen Unterdrückung der Absonderung von Galaktose zeigen würde, die sonst sehr leicht durch die Nieren passiert. Dies war gar nicht der Fall.

Ich habe es nicht als erforderlich angesehen, zu größeren Gaben als 5 ccm Tinct. opii zu steigen, da es mir hauptsächlich daran lag, die Wirkung des Opiums in solchen Gaben zu prüfen, die sich nicht allzusehr von den therapeutisch brauchbaren entfernten; 5 ccm Tinct. opii müssen ja als eine in dieser Hinsicht schon ganz beträchtliche Dosis betrachtet werden.

---

[1]) Bang, Der Blutzucker. S. 64.

Der Morphiumgehalt in den hier verwendeten Opiummengen, wenn wir denselben durchschnittlich zu ungefähr 10 % schätzen, liegt auch in sämtlichen Versuchen ganz bestimmt ziemlich weit unterhalb der von Luzzatto angegebenen Grenze für das Erscheinen von Zucker im Harn. In Übereinstimmung hiermit ist irgendeine vom Opium bedingte Glucosurie ja auch nicht eingetreten. Es ist aber interessant zu sehen, daß dessenungeachtet schon nach 2 ccm und dann weiter aufwärts eine unzweideutige Steigerung des Blutzuckers sich feststellen ließ. Sie ist indessen sehr gering, die maximale Erhöhung über das Anfangsniveau beträgt zwischen 0,07 bis 0,10 %, und die absolute Größe der Hyperglykämie erreicht in keinem der Versuche einen höheren Wert als 0,17 %, der Unterschied betrifft hauptsächlich die etwas längere Dauer derselben nach den größeren Dosen.

Mit der Verabreichung per os oder rectum wird immer eine gewisse Ungenauigkeit verbunden sein, insofern es nicht möglich ist zu beurteilen, ob und in welchem Grade Verschiedenheiten in bezug auf Schnelligkeit und Größe der Resorption sich geltend machen können. Daß bei rektaler Eingabe die Resorption ziemlich langsam statthat, dafür scheint in den Fällen, bei denen das Opium Hyperglykämie bewirkt, das ziemlich späte Eintreten derselben zu sprechen; erst nach 2 bis 2 ½ Stunden ist offenbar die genügende Menge ins Blut übergegangen. Es war darum selbstverständlich auch von Interesse, zu sehen, wie die Dinge sich bei subcutaner Einverleibung verhielten. Ich versuchte zuerst ebenfalls mit Tinct. opii und spritzte davon 1 ccm, ad 5 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, in den Rückensack ein. Aus der letzten Kolonne der Tabelle I sehen wir, daß, wenn das Quantum auf diese Weise schnell in den Kreislauf hineingeführt wird, eine geringe aber ziemlich lange andauernde Hyperglykämie zustande kommt. Schon nach 1 Stunde ist sie unzweideutig und bleibt dann 5 bis 6 Stunden auf ungefähr derselben Höhe stehen. Glucosurie tritt auch nun nicht ein.

Meine übrigen Versuche mit subcutaner Injektion sind unter Verwendung von Pantopon gemacht worden. Von einer 2 %igen Wasserlösung wurden wechselnde Mengen, von 1,5 bis 3 ccm, jedesmal ad 5 ccm verdünnt (gleich 30 bis 60 mg), in verschiedenen Versuchen injiziert. Das Resultat findet sich in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II.

Nr. des Tieres . .	12	13	14	12	13	14	15	16	13	12
Blutzucker, präform.	0,13%	0,08%	0,10%	0,11%	0,10%	0,10%	0,11%	0,11%	0,08%	0,15%
Pantopon subcutan	**60 mg**	**60 mg**	**60 mg**	**50 mg**	**50 mg**	**50 mg**	**50 mg**	**50 mg**	**40 mg**	**30 mg**
Blutzucker 15 Min. nachh.	0,13%	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 30 "	0,12%	0,09%	0,10%	0,10%	0,10%	0,11%	0,12%	0,23%	0,09%	0,09%
" 45 "	0,13	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 1 Std. nachh.	0,13	0,12	0,15	0,10	0,12	0,12	0,11	0,25	0,08	0,13
" 1½ "	0,11	0,13	0,18	0,11	0,11	0,13	0,14	0,28	0,07	0,12
" 2 "	0,15	0,15	0,19	0,11	0,13	0,18	0,13	0,24	0,10	0,11
" 2½ "	0,18	0,16	0,18	0,10	0,13	0,11	0,12	0,23	0,09	0,10
" 3 "	0,17	0,19	0,17	0,11	0,12	0,11	0,12	0,22	0,10	0,11
" 4 "	0,15	0,17	0,16	0,11	0,11	0,09	0,11	0,13	0,09	0,10
" 5 "	0,15	0,16	0,14	0,10	0,13	0,11	0,13	0,07	0,10	0,10
" 6 "	0,14	0,15	0,11	0,10	—	—	—	0,09	—	0,14
" 7 "	—	0,10	0,10	—	—	—	—	0,07	—	—

Wir sehen hieraus, daß 50 mg die Grenze zu bezeichnen scheinen, bis zu der man gehen kann, ohne daß eine Änderung der Blutzuckerkonzentration zustandezukommen braucht. In allen Versuchen mit 60 mg war ja eine unzweifelhafte Hyperglykämie zu konstatieren. Daß sich indessen eine individuell verschiedene Empfindlichkeit geltend machen kann, lehrt der Versuch bei Kaninchen 16, wo schon nach 50 mg Hyperglykämie zustande kam.

Da 50 mg Pantopon 25 mg Morphium enthalten und somit als gleichwertig mit 25 cg Opium zu betrachten sind, so scheint es beachtenswert, daß in dem Versuche mit Tinct. opii subcutan schon 1 ccm, worin höchstens ungefähr 10 cg Opium vorhanden sein können, Steigerung des Blutzuckergehalts bewirkte. Da Pantopon die sämtlichen Opiumalkaloide in demselben gegenseitigen Verhältnis wie in Opium selbst enthalten soll, könnte dies darauf deuten, daß die Hyperglykämiewirkung in den Opiumversuchen nicht allein vom Morphium bzw. von den Nebenalkaloiden bedingt sei, sondern daß vielleicht auch gewisse von den übrigen Bestandteilen des Opiums bzw. der Tinktur hieran mitschuldig seien. Die Frage scheint mir wenigstens wert, weiter verfolgt zu werden.

Schließlich habe ich einige Versuche gemacht, um zu sehen, wie sich die Opiumalkaloide bei wiederholter subcutaner Einverleibung in Form von Pantopon verhielten. Die Tabelle III belehrt hierüber.

Tabelle III.

Nr. des Tieres	14	13	15	16	14	17	21	18	19	17	20	16	20	16	19
	—	—	1850 g	—	2200 g	1375 g	2945 g	1525 g	2425 g	1475 g	2875 g	2650 g	—	2550 g	2425 g
Blutzucker, präformiert .	0,11 %	0,11 %	0,11 %	0,13 %	0,14 %	0,10 %	0,13 %	0,10 %	0,13 %	0,12 %	0,12 %	0,07 %	0,11 %	0,13 %	0,11 %
Pantopon subcutan . .	**50 mg**	**20 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**4 mg**	**2 mg**	**1 mg**	**1 mg**
Blutzucker 1/2 Std. nachh.	0,12 %	0,10 %	0,14 %	0,15 %	0,14 %	0,11 %	—	—	0,13 %	0,11 %	0,14 %	0,10 %	0,13 %	0,13 %	0,11 %
Pantopon 1/2 „ „	**50 mg**	**20 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	—	**5 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**4 mg**	**2 mg**	**1 mg**	**1 mg**
Blutzucker 1 „ „	0,15 %	0,11 %	0,14 %	0,25 %	0,14 %	0,13 %	0,12 %	0,11 %	0,14 %	0,10 %	0,09 %	0,20 %	0,12 %	0,11 %	0,10 %
Pantopon 1 „ „	**50 mg**	**20 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**5 mg**	**4 mg**	**2 mg**	**1 mg**	**1 mg**
Blutzucker 1 1/2 „ „	0,19 %	0,13 %	0,15 %	0,30 %	0,17 %	0,17 %	0,12 %	0,10 %	0,17 %	0,12 %	0,13 %	0,20 %	0,11 %	0,13 %	0,10 %
Pantopon 1 1/2 „ „	**50 mg**	**20 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	—	—	—	**5 mg**	—	—	—	—	—	—
Blutzucker 2 „ „	0,25 %	0,14 %	0,16 %	0,30 %	0,20 %	0,18 %	0,14 %	0,10 %	0,23 %	0,11 %	0,12 %	0,20 %	0,11 %	0,14 %	0,11 %
Pantopon 2 „ „	—	**20 mg**	**10 mg**	**10 mg**	**10 mg**	—	**10 mg**	—	—	—	—	—	—	—	—
Blutzucker 2 1/2 „ „	0,18 %	0,15 %	0,18 %	0,31 %	0,20 %	0,19 %	0,12 %	0,10 %	0,25 %	0,11 %	0,18 %	0,18 %	0,12 %	0,14 %	0,11 %
Pantopon 2 1/2 „ „	—	**20 mg**	**10 mg**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Blutzucker 3 „ „	0,23 %	0,21 %	0,23 %	0,28 %	0,21 %	0,21 %	0,16 %	0,10 %	0,21 %	0,12 %	—	0,11 %	0,14 %	0,13 %	0,10 %
Pantopon 3 „ „	—	**20 mg**	**10 mg**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Blutzucker 3 1/2 „ „	0,21 %	0,20 %	0,25 %	—	—	—	0,14 %	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 „ „	0,22 %	0,23 %	0,25 %	0,22 %	0,20 %	0,24 %	0,16 %	0,08 %	—	—	0,15 %	0,10 %	—	0,13 %	—
„ 4 1/2 „ „	—	—	—	—	—	—	0,14 %	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 „ „	0,16 %	0,19 %	0,20 %	0,19 %	0,17 %	0,19 %	0,14 %	0,08 %	—	—	—	—	—	0,10 %	—
„ 6 „ „	0,14 %	0,15 %	0,14 %	—	0,14 %	—	0,12 %	0,08 %	—	—	—	—	—	0,10 %	—

Beim Tiere 14 begann eine Steigerung schon nach der ersten von den halbstündlich gemachten Reinjektionen von 50 mg, und beim Tiere 21 war schon eine in Zwischenpausen von 1 Stunde 3 mal wiederholte Injektion von nur 10 mg genügend, um Hyperglykämie hervorzurufen. Erst wenn wir zu Gaben von 5 mg hinunter kamen, wurde es bei den meisten Tieren möglich, eine 3 malige Wiederholung in Zwischenpausen von $^1/_2$ Stunde ohne Einfluß auf die Zuckerkonzentration zu machen. Bei gewissen Tieren sind jedoch schon 5 mg zu viel gewesen. Die Kaninchen zeigen also in bezug auf die Blutzuckerkonzentration eine große Empfindlichkeit gegen wenigstens in kürzeren Pausen wiederholtes Verabreichen der Opiumalkaloide, und diese Empfindlichkeit scheint hier individuell derart variabel zu sein, daß ihre Grenze bei jedem Tiere besonders austitriert werden muß.

Zuletzt will ich nur bemerken, daß in keinem der Versuche weder nach Pantopon noch nach Tinct. opii auch nicht in der Gabe von 5 ccm vollständige Narkose eintrat; höchstens wurden die Tiere nach den größeren Dosen weniger lebhaft als früher.

Die Einwirkung der Opiumalkaloide auf Hyperglykämie und Glucosurie nach Adrenalininjektion.

Wie bekannt, bewirkt eine subcutane Injektion von Adrenalin eine mehr oder weniger starke Steigerung des Blutzuckergehalts, die öfters von Glucosurie begleitet wird. Auch wird in bezug auf eine große Gruppe anderer experimentellen Hyperglykämien allgemein angenommen, daß sie durch die Nebennieren vermittelt werden, durch eine irgendwie ausgelöste Hypersekretion wird eine Adrenalinämie hervorgerufen, die ihrerseits die Zuckerdepots mobilisiert. Bei Diabetes mellitus spielt jedoch dieser Mechanismus ziemlich sicher keine sehr bedeutende Rolle, wenigstens nicht in den schwierigen Fällen, bei denen vor allem die Opiumwirkung zutage tritt. Jedenfalls war es doch von Interesse festzustellen, wie die Opiumalkaloide auf das Vermögen der Adrenalinämie, Hyperglykämie und Glucosurie hervorzurufen, einwirken.

In meinen Versuchen verwendete ich die käufliche Adrenalinchloridlösung (Takamine) 1:1000, mit 4 Teilen Kochsalz-

Tabelle IV.

Nr. des Tieres	2			6		4		7		7		2	
Injizierte Adrenalinmenge	1 mg			1 mg		0,5 mg		0,5 mg		0,2 mg		0,2 mg	
	ohne Opium %	Tinct. opii 2 Std. vorher %	Tinct. opii 1/2 Std. vorher %	Tinct. opii 1 Std. vorher %	ohne Opium %	Tinct. opii 1/2 Std. vorher %	ohne Opium %	ohne Opium %	Tinct. opii 1/2 Std. vorher %	Tinct. opii 1/2 St. vorh. %	ohne Opium %	ohne Opium %	Tinct. opii 1/2 Std. vorher %
Blutzucker, präformiert	0,14	0,11	0,12—0,14	0,12—0,10	0,11	0,08—0,09	0,15	0,10	0,12—0,13	0,15	0,12	0,12	0,10—0,08
„ 1/2 Std. n. d. Adrenalininjektion	0,14	0,18	0,20	0,10	0,14	0,08	0,16	0,18	0,14	0,17	0,14	0,14	0,11
„ 1 „ do.	0,25	0,25	0,27	0,15	0,19	0,11	0,19	0,30	0,27	0,21	0,23	0,18	0,14
„ 1 1/4 „ do.	—	—	—	—	—	—	0,24	—	—	—	—	—	—
„ 1 1/2 „ do.	0,38	0,38	0,34	0,22	0,20	0,12	0,20	0,34	0,35	0,23	0,29	0,25	0,18
„ 1 3/4 „ do.	—	—	—	—	—	—	0,19	—	—	—	—	—	—
„ 2 „ do.	0,39	0,38	0,34	0,21	0,27	0,13	0,19	0,45	0,36	0,26	0,34	0,25	0,22
„ 2 1/2 „ do.	0,41	0,33	0,38	0,24	0,25	0,12	0,21	0,46	0,39	0,32	0,28	0,26	0,21
„ 3 „ do.	0,41	0,30	0,41	0,29	0,25	0,11	0,18	0,48	0,38	0,31	0,24	0,23	0,20
„ 3 1/2 „ do.	—	—	—	—	0,22	0,13	—	—	—	—	—	—	—
„ 4 „ do.	0,30	0,30	0,31	0,27	—	0,14	0,16	0,37	0,33	0,29	0,16	0,19	0,15
„ 4 1/2 „ do.	—	—	—	—	0,22	—	—	—	0,20	—	—	—	—
„ 5 „ do.	0,26	0,16	0,21	0,32	—	0,12	0,12	0,23	—	0,20	0,11	0,11	0,12
„ 5 1/2 „ do.	—	—	—	—	0,24	—	—	—	0,12	—	—	—	—
„ 6 „ do.	0,14	0,11	0,16	0,27	—	0,15	0,17	0,14	—	0,17	0,12	0,11	0,11
„ 6 1/2 „ do.	—	—	—	—	0,13	—	—	—	0,10	—	—	—	—
„ 7 „ do.	0,11	0,10	0,11	0,19	—	0,13	0,11	0,13	—	0,14	0,12	0,09	0,11
„ 7 1/2 „ do.	—	—	—	—	0,11	—	—	—	0,11	—	—	—	—
„ 8 „ do.	0,14	0,07	0,10	0,14	—	0,12	0,11	0,12	—	0,13	0,13	0,09	0,13
„ 8 1/2 „ do.	—	—	—	—	0,10	—	—	—	0,10	—	—	—	—
„ 9 „ do.	0,11	0,07	0,11	0,11	—	0,07	—	0,14	—	—	0,12	—	—
Harnzucker	0,56 g	1,62 g	3,41 g	0,37 g	1,41 g	0,00 g	0,19 g	3,02 g	2,45 g	0,32 g	0,29 g	0,00 g	0,00 g

lösung verdünnt: also 1:5000. Hiervon wurden wechselnde Mengen (von 1 bis 0,2 mg Subst.) in verschiedenen Versuchen subcutan injiziert. Mit jeder Adrenalingabe wurde immer an demselben Tiere Doppelversuche gemacht, teils ein Kontrollversuch mit Adrenalin allein, teils ein Versuch mit derselben Adrenalinmenge längere oder kürzere Zeit ($^1/_2$ bis 2 Stunden) nach Zufuhr von Opiumalkaloiden. Diese wurden in den allermeisten Versuchen in Form von Tinct. opii, und zwar in der Menge von 5 ccm in 100 ccm Wasser durch Magensonde verabreicht. Nur wohlgenährte Tiere wurden verwendet. Zwischen den verschiedenen Versuchen an demselben Tiere verfloß immer wenigstens 1 Woche. Die Reihenfolge zwischen Kontrollversuch und Opiumversuch wurde in den verschiedenen Fällen variiert, um hierdurch eventuelle Nachwirkungen der vorhergehenden Behandlung zu eliminieren. In der Tabelle IV ist diese Reihenfolge auch beibehalten.

In den Versuchen mit 1 mg Adrenalin ist kein bestimmter Einfluß des Opiums auf die Hyperglykämie zu konstatieren. Bei Kaninchen 2 erreichte die Steigerung im ersten Opiumversuche, wo das Opium 2 Stunden vor der Adrenalininjektion gegeben wurde, zwar nicht völlig dieselbe absolute Höhe wie im Kontrollversuch, und sie begann auch ungefähr 1 Stunde früher zurückzugehen. Der Höhenunterschied betrug indessen nur 0,03$^0/_0$, und die relative maximale Steigerung über den Anfangswert ist ja in beiden Versuchen gleich groß: 0,27$^0/_0$ (0,14 bis 0,41 bzw. 0,11 bis 0,38). Betreffs des früheren Hinabsinkens muß man selbstverständlich auf kleinere Abweichungen in der Kurvenform auch nach Injektionen derselben Adrenalinmenge an demselben Tiere bei verschiedenen Gelegenheiten gefaßt sein. Beim Kaninchen 6 finden wir die Höhe der Hyperglykämie umgekehrt größer im Opiumversuche (0,32 gegen 0,27 im Kontrollversuch). Bemerkenswert ist nur, daß das Maximum im Opiumversuche etwas später erreicht wird; das Hinabsinken beginnt ungefähr gleichzeitig in beiden, die Norm wird aber der größeren Höhe des Maximums gemäß 2 Stunden später im Opiumversuch erreicht. In keinem dieser Versuche kann also eine hemmende Wirkung des Opiums auf die Adrenalinhyperglykämie konstatiert werden.

In allen Versuchen trat Glucosurie ein. Bei Nr. 2 war

sie indessen im Kontrollversuch bedeutend geringer als in den beiden Opiumversuchen. Da jedoch bei Nr. 6 das umgekehrte Verhalten stattfand (Opiumversuch: 0,37 g Harnzucker; Kontrollversuch: 1,41 g), ist es selbstverständlich nicht möglich, irgendwelchen gesetzmäßigen Einfluß des Opiums auf die Zuckerausscheidung durch die Nieren in der einen oder anderen Richtung zu sehen. Da offenbar bei beiden Tieren die größeren Harnzuckermengen in den der Reihe nach späteren Versuchen beobachtet wurden, wäre wohl zunächst an eine bleibende Nachwirkung der vorherigen Adrenalininjektion in der Richtung einer Senkung der „Zuckerdichtigkeit" der Nieren zu denken. Bei Nr. 2 finden wir so in allen drei nacheinander folgenden Versuchen eine sukzessive Steigerung von 0,56—1,62—3,41 g, was ja nicht durch eine entsprechende Änderung der Hyperglykämie erklärt werden kann. Eine derartige Wirkung des Adrenalins auf die Nieren ist vorher nicht beobachtet worden. Es ist vielmehr behauptet worden, daß wiederholte Adrenalininjektionen eine Adrenalingewöhnung bewirken würden, so daß die Tiere schließlich gar keinen Zucker mehr absondern würden. Es hat sich jedoch dann immer um täglich während längerer Zeit wiederholten Injektionen gehandelt. Hier lag dagegen immer mehr als 1 Woche zwischen jeder Injektion.

Es ist indessen immerhin möglich, daß die hier beobachtete Senkung der „Zuckerdichtigkeit" der Nieren als eine besondere toxische Wirkung einer etwas zu großen Adrenalindose zu betrachten wäre. Dann könnte aber der negative Ausfall der Opiumversuche auch nicht als besonders beweisend betrachtet werden, da die hervorgebrachte Adrenalinämie vielleicht bedeutend größer wäre, als was sich jemals von einer noch so starken Nebennierenhypersekretion erwarten ließe, und auch allzu groß, als daß irgendwelche hemmende Wirkung des Opiums sich geltend machen könnte.

Im Anschluß an derartige Überlegungen ging ich darum zu Versuchen mit kleineren Adrenalindosen über. Mein erster Versuch mit 0,5 mg Adrenalin schien auch beim ersten Anblick die Richtigkeit dieser Auffassung zu bestätigen, indem das Opium, das hier $^1/_2$ Stunde vor der Adrenalininjektion verabreicht wurde, eine vollständige Hemmung der Blutzuckerwirkung des Adrenalins herbeigeführt zu haben schien. Eine

nur ganz geringe Hyperglykämie erfolgte, nicht größer als wie sie vom Opium allein erwartet werden konnte, und auch die Glucosurie war völlig unterdrückt worden, während im Kontrollversuche an demselben Tiere 9 Tage später dieselbe Adrenalindosis eine Hyperglykämie bewirkte, deren Maximum wenigstens 0,07 % höher als im Opiumversuche lag, und außerdem eine deutliche Glucosurie mit einer Gesamtausscheidung von 0,19 g Glucose und einer Harnzuckerkonzentration von Maximum 1,36 % in der Harnmiktion 2½ Stunden nach der Adrenalininjektion zustande kam.

Eine nähere Prüfung lehrt indessen, daß der Versuch bei weitem nicht als beweisend betrachtet werden kann. Im Kontrollversuch war, wie wir sehen, die Blutzuckerkonzentration schon vor dem Eingriff ungewöhnlich hoch (0,15 %), beinahe um das Doppelte höher als im Opiumversuche (0,08 bis 0,09 %). Die maximale Steigerung über dem präformierten Wert beträgt also tatsächlich nur 0,09 %, oder wenn wir vom Wert 1¼ Stunde nach dem Eingriff absehen, vielleicht nur 0,06 %.

Es läßt sich nämlich nicht mit Sicherheit ausschließen, daß die kleine, flüchtige Extrasteigerung nach der 1. Stunde nicht auch von einem Unfall abhängen konnte, der dem Versuchstiere bei der Blutprobe 1 Stunde nach der Injektion begegnete. Das Tier fiel nämlich von dem ziemlich hohen Tisch auf den Boden hinab und blieb hier einige Minuten völlig unbeweglich liegen. Gerade um zu. untersuchen, inwieweit der psychische Chok, den das Tier durch diesen Sturz wohl erlitt, einen Einfluß auf den Blutzucker bewirkt hätte, wurde das Blut während der nächsten Stunde jede Viertelstunde untersucht. Wenn eine derartige Wirkung überhaupt zustande gekommen ist, ist sie ja ganz gewiß nur sehr gering und schnell vorübergehend, und als Beispiel der Bedeutung derartiger Momente verdient die Beobachtung notiert zu werden. Betreffs der hier zunächst zu diskutierenden Frage habe ich jedoch darauf hinweisen wollen, daß die sekundäre Elevation der Kurve vielleicht auf diese Weise zu erklären wäre und also mit der Adrenalininjektion selbst nichts zu tun hätte.

Im Opiumversuche beträgt nun die maximale Steigerung über den Anfangswert 0,06 bis 0,05 %, und der Unterschied zwischen den beiden Versuchen ist also in der Tat minimal, wenn überhaupt vorhanden. Und die Glucosurie besagt auch nicht viel. Wenn wir daran festhalten, daß die „Zuckerdichtigkeit" bis zu einer gewissen, bestimmten Höhe der Blutzuckerkonzentration gilt, ist offenbar die Grenze im Kontrollversuche

überschritten worden; dies kann aber auf das hohe Anfangsniveau in diesem Versuche zurückgeführt werden. Ein Zuschuß, der hier, um bildlich zu sprechen, das Gefäß zum Überlaufen brachte, konnte im Opiumversuche wegen des vorherigen niedrigeren Standes dasselbe nicht bis zum Rande füllen. Angesichts des Verhaltens der Glucosurie in den Versuchen mit 1 mg Adrenalin wäre es auch in Betracht zu ziehen, ob nicht auch 0,5 mg Adrenalin eine Nachwirkung auf die „Zuckerdichtigkeit" der Nieren bedingen konnte und es sich also in dem späteren Kontrollversuche um eine durch die Adrenalininjektion im vorherigen Opiumversuche verursachte Erniedrigung derselben handeln konnte. Der Schluß wird jedenfalls der sein, daß der Versuch nicht dafür beweisend ist, daß das Opium hemmend gewirkt habe.

Ein zweiter Opiumversuch mit 0,5 mg Adrenalin am Kaninchen 7 kann auch nicht als entscheidend betrachtet werden. Zwar ist die Hyperglykämie auch hier geringer als im entsprechenden Kontrollversuche. Ihr Maximum liegt ja 0,09 °/₀ niedriger, und das Anfangsniveau ist in beiden Versuchen ungefähr gleich; wir wissen aber nicht, inwieweit die hier nachgewiesene Differenz (0,09 °/₀) außerhalb derjenigen Variationen fällt, denen wir in verschiedenen Versuchen begegnen können. Andererseits ist selbstverständlich die Möglichkeit einer Hemmung in einem gewissen Grade hier nicht zu bestreiten. In bezug auf die Glucosurie ist es interessant, daß wir hier nach 0,5 mg nicht denjenigen Einfluß auf die „Zuckerdichtigkeit" der Nieren konstatieren können, der in den Versuchen mit 1 mg Adrenalin hervortrat. Die Glucosurie schien hier parallel mit der Hyperglykämie zu gehen, und sie ist demgemäß im späteren Opiumversuche etwas niedriger (2,45 g gegen 3,02 g im Kontrollversuche).

Im Gegensatz zum Kaninchen 4 war das Tier 7 sehr adrenalinempfindlich; 0,5 mg Adrenalin wirkten hier gleich kräftig wie 1 mg bei Kaninchen 2, im Kontrollversuche war die Hyperglykämie sogar größer. Möglicherweise ist die Adrenalinwirkung bei diesem Tiere allzu kräftig gewesen, so daß nur eine ganz unbedeutende Hemmung des Opiums sich geltend machen könnte. In diesem Falle müßte diese noch deutlicher hervortreten, wenn es gelänge, durch eine geringere Adrenalindosis eine schwächere Wirkung, d. h. eine niedrigere Hyperglykämie herbeizuführen.

Um dies zu prüfen, machte ich an demselben Tiere einen Versuch mit nur 0,2 mg Adrenalin.

Der Versuch bewegte sich nicht in der angedeuteten Richtung. Der Unterschied zwischen den Maximalwerten der beiden Versuche ist minimal und fällt völlig innerhalb der Fehlergrenze. Im Opiumversuche steigt zwar die Kurve etwas langsamer und erreicht ihr Maximum $^1/_2$ Stunde später als im Kontrollversuche, sinkt aber dafür nicht so schnell. Die Glucosurie ist auch in beiden Versuchen gleichgroß gewesen (0,32 g im Opiumversuche, 0,29 g im Kontrollversuche). Irgendwelche Hemmungswirkung des Opiums ist aus diesem Versuche nicht herauszulesen.

Auch nicht in einem anderen Versuche mit 0,2 mg am Kaninchen 2 war irgendwelche sichere Hemmung wahrzunehmen. In diesem Opiumversuche liegt das Maximum der Hyperglykämie nur 0,04 $^0/_0$ niedriger als der entsprechende Wert im Kontrollversuche; sie dauerten ungefähr gleich lange. Die Hyperglykämie war hier mäßig, und wenn das Opium einigermaßen stärker hemmend wirkte, hätte dies sich wohl hier zeigen müssen. Glucosurie trat in keinem von den Versuchen ein. Die Hyperglykämie hat offenbar nicht das Niveau erreicht, für das die Nieren dieses Tieres eingestellt sind.

In allen bisher erwähnten Versuchen kam nun das Opium in einer Menge zur Verwendung, die wahrscheinlich an und für sich eine gewisse, wenn auch geringe Erhöhung des Blutzuckergehalts bewirkt. Es ist aber kaum wahrscheinlich, daß hierdurch allein das Erscheinen einer irgendwie stärkeren Hemmungswirkung würde verhindert werden, wenn auch streng genommen nur bei Kaninchen 4 die Größe dieser Opiumhyperglykämie durch einen besonderen Versuch an demselben Tiere direkt festgestellt wurde. Wir wissen ja auch nicht, inwieweit diese Opiumhyperglykämie sich überhaupt der Adrenalinhyperglykämie zu addieren braucht. Betreffs eines anderen Narkoticums, des Chloralhydrats, hat Jacobsen[1]) gezeigt, daß es sowohl selbst eine Hyperglykämie bewirkt, als auch verstärkend auf gewisse andere Hyperglykämien, darunter auch auf diejenige nach Adrenalininjektion, wirkt, daß diese verstärkende Wirkung indessen in den Fällen am ausgesprochensten war, in

[1]) Jacobsen, diese Zeitschr. 51, 443, 1913.

denen eine starke Narkose zustande kam; bei wenig beeinflußten Tieren war es nicht zu entscheiden, ob eine Steigerung der Hyperglykämie eingetreten war. Bei keinem von meinen Tieren hat das Opium eine eigentliche Narkose bewirkt.

Über den Mechanismus dieser Hyperglykämie nach Opium sowohl als nach anderen Narkotica ist nichts Sicheres bekannt. Daß es sich hier um eine Einwirkung auf die Nebennierensekretion und also um eine Adrenalinhyperglykämie handeln würde, scheint weniger wahrscheinlich. Es wäre ja sehr eigentümlich, wenn eine solche Reizwirkung des Opiums erst bei diesen großen Gaben sich zeigen würde. Näher liegt es, mit Bang[1]) an die Ausschaltung einer physiologisch funktionierenden Hemmungsvorrichtung zu denken[2]). Auf jeden Fall war es von Interesse, die Wirkung auch nach solchen Gaben zu prüfen, die selbst gar keinen Einfluß auf die Blutzuckerkonzentration ausübten. Solche Versuche habe ich unter Verwendung von Pantopon gemacht, und zwar in Form von halbstündlich 3 mal wiederholten subcutanen Injektionen von je 5 mg (Tabelle V). Die erste Pantoponinjektion wurde $^1/_2$ Stunde vor, die zweite unmittelbar vor und die dritte $^1/_2$ Stunde nach der Adrenalininjektion gemacht. An beiden Tieren war es im voraus durch besondere Versuche festgestellt worden, daß diese so verabreichte Adrenalinmenge keine Änderung des Blutzuckergehalts veranlaßte (vgl. Tabelle III). Bei Nr. 18 wurden 0,5 mg Adrenalin injiziert, und der Sicherheit wegen wurden 2 Kontrollversuche gemacht, der eine 13 Tage vor, der andere 6 Tage nach dem Pantoponversuch. Die Hyperglykämie verlief in den beiden Kontrollversuchen außerordentlich gleichförmig, und sie bieten eben eine sehr hübsche Illustration zu der Leistungsfähigkeit der angewandten Zuckerbestimmungsmethode. Der

---

1) Bang, diese Zeitschr. 58, 254, 1913.

2) Nach in letzter Zeit in Bangs Institut gemachten Erfahrungen (noch nicht veröffentlichte Untersuchungen) muß die bei tieferer Narkose eintretende Abkühlung der Tiere ebenfalls beim Zustandekommen der Blutzuckersteigerungen nach Narkotica in größeren Dosen berücksichtigt werden. Beim Anstellen meiner Versuche waren wir noch nicht hierauf aufmerksam gemacht worden, und ich habe darum auch keine Temperaturmessungen gemacht. Da die bei meinen Tieren verwendeten Opiumgaben, wie gesagt, keine eigentliche Narkose bewirkten, ist es jedoch kaum wahrscheinlich, daß ein Sinken der Körpertemperatur erfolgt wäre.

Tabelle V.

Nummer des Tieres	18			17	
Injizierte Adrenalinmenge	0,5 mg			0,2 mg	
	Kontroll-vers. 1	Pantopon 5 mg × 3	Kontroll-vers. 2	Kontroll-vers.	Pantopon 5 mg × 3
Blutzucker 1/2 Std. v. d. Adrenalininj.	—	0,13 %	—	—	0,13 %
Pantoponinj. 1/2 " " " "	—	5 mg	—	—	5 mg
Blutzuck. unmittelb. " " "	0,11 %	0,12 %	0,11 %	0,10 %	0,12 %
Pantoponinj. " " " "	—	5 mg	—	—	5 mg
Blutzucker 1/2 Std. n. " "	0,17 %	0,13 %	0,15 %	0,13 %	0,22 %
Pantoponinj. 1/2 " " " "	—	5 mg	—	—	5 mg
Blutzucker 1 " " " "	0,23 %	0,20 %	0,24 %	0,21 %	0,26 %
" 1 1/2 " " " "	0,33	0,34	0,31	0,19	0,29
" 2 " " " "	0,33	0,29	0,36	0,20	0,25
" 2 1/2 " " " "	0,34	0,24	0,36	0,19	0,21
" 3 " " " "	0,36	0,23	0,36	0,14	0,17
" 4 " " " "	0,25	0,18	0,23	0,10	0,12
" 5 " " " "	0,15	0,11	0,14	0,10	0,11
" 6 " " " "	0,09	—	0,12	—	0,10
" 7 " " " "	—	—	—	—	0,10
Harnzucker	0,21 g	0,28 g	1,00 g	0,00	0,00

Pantoponversuch weicht nun in gewissem Grade von diesen ab. Ihr Maximum ist zwar unbedeutend kleiner, dauert aber ein wenig kürzer. Der Unterschied scheint mir doch kaum genügend ausgesprochen zu sein, um wenigstens irgendwelche stärkere Hemmung zu beweisen. In bezug auf die Glucosurie ist sie in Abrede zu stellen, hier finden wir im Gegenteil die schon erwähnten sukzessiven Steigerungen bei den nachfolgenden Versuchen wieder, die wir als eine Nachwirkung der vorherigen Adrenalininjektionen gedeutet haben. Beim Tiere 17 wurden nur 0,2 mg Adrenalin injiziert. Eine nur mäßige Hyperglykämie erfolgte, die hier im Pantoponversuche sogar etwas größer war. Eine Hemmungswirkung ist hier also völlig ausgeschlossen. Glucosurie trat in keinem von diesen Versuchen ein.

Als Ergebnis der Adrenalinversuche geht also hervor, daß zwar die Hyperglykämie nach Zufuhr von Opiumalkaloiden in gewissen Versuchen etwas niedriger als in den entsprechenden Kontrollversuchen war, daß dies aber nicht konstant ist, und daß nie irgendwelcher bedeutende Unterschied vorhanden war. Unter den hier gewählten Versuchsbedingungen hat sich also keine sicher hemmende Wirkung seitens der Opium-

alkaloide nachweisen lassen, wenn es auch anderseits nicht völlig ausgeschlossen werden kann, daß in gewissen Fällen eine solche von geringerem Grade vorliegen könnte. Dies hat indessen weniger Interesse. Nur stärkere, deutlich in die Augen fallende Wirkungen der Opiumalkaloide können irgendeine Rolle spielen. Eine hemmende Wirkung auf die Glucosurie ist auch in keinem von den Versuchen beobachtet worden.

Neben diesem hauptsächlichen Resultat sind einige Beobachtungen gemacht worden, die hier im Zusammenhang mögen rekapituliert werden.

Außer den Beispielen der individuell verschiedenen Empfindlichkeit gegenüber dem Adrenalin in bezug auf die Größe der Hyperglykämie verdient es erwähnt zu werden, daß in zwei Fällen konstatiert wurde, daß diese bei einem und demselben Tiere offenbar von der Stärke der Adrenalinämie abhängt. Sowohl das Tier 2 als 7, die alle beide verschieden große Adrenalinmengen injiziert erhielten, jener 1 und 0,2 mg, dieser 0,5 und 0,2 mg, reagierten mit bedeutend größerer Hyperglykämie nach den größeren Gaben. Dies ließ sich zwar a priori erwarten, ist aber hier direkt durch einen Versuch bestätigt worden.

Weiter erinnere ich an das interessante Verhalten, daß das Adrenalin in den Fällen, wo es eine etwas stärkere Hyperglykämie bewirkte, nach allem zu urteilen, eine ganz besondere Einwirkung auf die Nieren in der Richtung einer eine gewisse Zeit (über eine Woche) dauernden Senkung ihrer „Zuckerdichtigkeit“ ausübte, so daß bei erneuter Injektion derselben Adrenalinmenge die Harnzuckerausscheidung vermehrt wird, ohne daß die Hyperglykämie stärker wird.

Schließlich bemerke ich, daß die Glucosurie offenbar von einer gewissen Höhe der Hyperglykämie abhängt. Erst wenn dieselbe dieses individuell wahrscheinlich verschieden hoch gelegene Niveau erreicht hat, tritt Zucker im Harne auf. Bei hyperglykämiebewirkenden Eingriffen kann es auf die vorherige Lage des „Zuckerniveaus“ ankommen, inwieweit es so viel erhöht wird, daß eine Glucosurie

zustande kommt. Es scheint mir wichtig dies hervorzuheben, weil hieraus folgt, daß aus einer ausgebliebenen Glucosurie nur mit größter Reserve auf eine Hemmungswirkung zu schließen ist. Um dies beurteilen zu können, muß auch das Verhalten des Blut zuckers in Erwägung gezogen werden.

Opium und Piqûre.

Nachdem es sich also gezeigt hatte, daß irgendeine Hemmungswirkung seitens der Opiumalkaloide gegenüber der durch Adrenalininjektion bewirkten Hyperglykämie sich nicht bestimmt nachweisen läßt, blieb es nun übrig zu untersuchen, inwieweit vielleicht der Angriffspunkt im Adrenalinabsonderungsmechanismus selbst zu suchen sei, und hierbei lag es nahe, sich an eine Untersuchung der Wirkung des Opiums auf die Hyperglykämie nach dem Zuckerstich hinzuwenden.

Nach allgemein gehegter Auffassung soll ja diese durch eine Adrenalinhypersekretion vermittelt werden, die ihrerseits durch einen den Nebennieren via Nervi splanchnici zugeführten Reiz ausgelöst wird. Daß jedoch gewisse Tatsachen vorhanden sind, die sich schwierig mit dieser Auffassung vereinen lassen, sei nebenbei erwähnt[1]). Auch bezüglich der Ansicht, wonach die antiglucosurische Wirkung des Opiums bei Diabetes durch seinen bekannten sedativen Einfluß auf das Nervensystem erklärt wird, war es natürlich von Interesse, seinen Effekt auf eine Hyperglykämie zu prüfen, die jedenfalls auf dem Nervenwege ausgelöst wird. Solche Versuche sind, so viel ich weiß, früher nicht gemacht worden. Dagegen hat Neubauer[2]) einige Untersuchungen über die Einwirkung des Morphiums und des Pantopons auf die Glucosurie nach Piqûre gemacht. Er injizierte die Substanzen subcutan in Dosen auf 0,007 bis 0,02 g pro Kilogramm Kaninchen. In keinem von den Versuchen, wo er das Morphium kurz vor oder unmittelbar nach dem Zuckerstich injizierte, wurde die Glucosurie völlig unterdrückt, und angesichts der individuellen Variationen in bezug auf die Größe der Piqûreglucosurie will er auch nicht entscheiden, inwieweit irgendeine kleinere Hemmung möglicher-

[1]) Vgl. hierüber Bang, Der Blutzucker, S. 98.
[2]) Neubauer, diese Zeitschr. 43, 335, 1912.

weise bewirkt worden sei. In einzelnen Versuchen, wo das Morphium erst nach Eintritt der Glucosurie eingespritzt wurde, fand er dagegen diese schnell, schon innerhalb der nächsten Stunden, sinken. Er machte nur einen Versuch mit Pantopon, 0,04 g wurden einem Kaninchen (2000 g) ungefähr 3 Stunden nach der Piqûre injiziert. Es konnte keine Wirkung beobachtet werden.

In meinen eigenen Versuchen wurde die Piqûre auf die von Claude Bernard angegebene Weise durch einen Einstich direkt durch das Nackenbein gemacht. Die Operationen sind von meinem Freunde Prof. Bang ausgeführt worden. Das Opium wurde in gewöhnlicher Weise in Form von Tinct. opii und in der Menge von 5 ccm in 100 g Wasser per Magensonde gereicht, in dem einen Doppelversuch $^1/_2$ Stunde, im anderen 1 Stunde vor dem Zuckerstich.

Tabelle VI.

Nummer des Tieres	8	11	9	10
	Ohne Opium 1700 g %	Ohne Opium 1700 g %	Tinct. opii $^1/_2$ Stunde vorher 1800 g %	Tinct. opii 1 Stunde vorher 1500 g %
Blutzucker, präformiert	0,13	0,12	0,13	0,12—0,11
„ 15 Min. nach d. Piqûre	0,21	0,15	0,16	0,14
„ 30 „ „ „ „	0,21	0,18	0,19	0,17
„ 45 „ „ „ „	0,22	0,21	0,21	0,17
„ 1 Std. „ „ „	0,23	0,19	0,21	0,21
„ $1^1/_2$ „ „ „ „	0,23	0,20	0,25	0,25
„ 2 „ „ „ „	0,34	0,28	0,34	0,29
„ $2^1/_2$ „ „ „ „	0,22	0,20	0,31	0,30
„ 3 „ „ „ „	0,21	0,23	0,26	0,23
„ $3^1/_2$ „ „ „ „	0,19	0,22	0,24	—
„ 4 „ „ „ „	0,18	0,21	0,23	0,17
„ 5 „ „ „ „	Exitus	0,16	0,14	0,14
„ 6 „ „ „ „	—	0,14	0,11	0,13
„ 7 „ „ „ „	—	0,13	0,12	0,12
„ 8 „ „ „ „	—	0,11	0,11	0,12
„ 9 „ „ „ „	—	0,11	0,11	—
Harnzucker	0,14 g	0,21 g	1,06 g	1,08 g

Mit den Resultaten können wir hier schnell fertig werden. Die Hyperglykämie blieb in keinem von ihnen aus. Inwieweit eine kleinere Hemmung vorhanden war, läßt sich selbstver-

ständlich nicht mit Bestimmtheit entscheiden; nichts deutet jedoch hierauf. Die Hyperglykämie erreichte in dem Opiumversuche ungefähr dieselbe maximale Höhe wie in den entsprechenden Kontrollversuchen (0,34 % bzw. 0,30 % in jenen, 0,34 % bzw. 0,28 % in diesen), und das Niveau vor dem Eingriffe war in allen Versuchen ungefähr gleich. Auch die Dauer, 6 bis 7 Stunden, ist ziemlich übereinstimmend. Im ersten Kontrollversuche starb das Tier zwar schon nach 4 Stunden, die Hyperglykämie war zu dieser Zeit noch immer vorhanden, obgleich schon im Sinken, und der Ursprungswert würde, nach allem zu urteilen, gewiß nicht früher als nach weiteren 2 bis 3 Stunden erreicht worden sein.

Glucosurie trat in allen Versuchen ein und war am stärksten in den beiden Opiumversuchen: 1,06 bzw. 1,08 g gegen 0,14 bzw. 0,20 g in den Kontrollversuchen. Im Kontrollversuche mit Kaninchen 8 wäre es ja möglich, daß sie etwas höher hätte steigen können, wenn nicht Exitus eingetreten wäre. Irgendeine bedeutendere weitere Zuckermenge hätte sich doch kaum erwarten lassen, da die Hyperglykämie schon bestimmt zu sinken angefangen hatte, und außerdem, nach den übrigen Versuchen zu urteilen, die größte Zuckermenge schon während der ersten Stunden nach der Piqûre abgesondert wird.

Da man unzweifelhaft mit individuellen Variationen in bezug auf die Größe und den Verlauf der Hyperglykämie rechnen muß, ist selbstverständlich die Möglichkeit einer kleineren Hemmung, wie gesagt, nicht mit Bestimmtheit auszuschließen. Wenn es indessen auch tunlich gewesen wäre, einen Zuckerstich an demselben Tiere zu wiederholen, ist es wohl dennoch nicht sicher, daß sich hierdurch irgendeine Gewißheit hätte gewinnen lassen, da wir nicht wissen, ob ein derartiger zweiter Stich gerade das gleiche Resultat bewirken müßte.

Die Tiere überleben außerdem den Eingriff oft nicht längere Zeit. Meine Tiere, Nr. 9 ausgenommen, starben alle binnen kurzem; Nr. 11 lebte nur bis zum Nachmittag des folgenden Tages, Nr. 10 starb während der folgenden Nacht und Nr. 8 wie gesagt, schon 5 Stunden nach dem Eingriff.

An diesem Tiere wurde eine Sektion $^1/_2$ Stunde nach dem Exitus vorgenommen. Der Stich hatte den Boden des 4. Ventrikels etwas links

von der Mittellinie getroffen. Der Ventrikel war von einem Blutgerinnsel ausgefüllt, weshalb der Tod wahrscheinlich von einer durch eine Nachblutung bedingten Lähmung des Atmungszentrums bedingt worden ist. Bei der Sektion wurden die Nebennieren herauspräpariert, mit Sand und einigen Kubikzentimetern 1% HCl zerrieben und während 5 bis 6 Stunden maceriert. Im Filtrat gab mit $FeCl_3$ keine deutliche Grünfärbung, und NaOH-Zusatz bis zu alkalischer Reaktion machte auch keine Farben veränderung. Dieses Resultat stimmt mit früher gemachten Erfahrungen überein, wonach der Zuckerstich ein so gut wie völliges Verschwinden der chromaffinen Substanz bewirkt[1]).

Es scheint mir von gewissem Interesse, das negative Resultat meiner beiden Opium-Piqûreversuche demgegenüber zu stellen, was über die Wirkung anderer Narkotica auf den Zuckerstich bekannt ist. In bezug auf Chloral liegen solche von Neubauer[2]) und Jacobsen[3]) vor. Der erste will eine deutliche Hemmung bzw. völlige Unterdrückung der Zuckerstichglucosurie gesehen haben, Jacobsen fand dagegen keine Verminderung der Hyperglykämie, sondern sogar in gewissen Fällen, wo die Narkose sehr tief war, umgekehrt eine Erhöhung, die er als eine Summationswirkung von Piqûre und Chloral deutet, das ja schon selbst eine Steigerung des Blutzuckers bewirkt. Bang[4]) hat vor kurzem diesen Widerspruch in der Weise zu lösen versucht, daß er zeigen konnte, daß eine nur ganz leichte Narkose, wie sie ihm durch eine Kombination von Äther und Urethan hervorzubringen gelang, die Zuckerstichhyperglykämie unterdrückt, während eine tiefe solche sie steigert. Schon oben wurde auf die von ihm angedeutete Möglichkeit der Ausschaltung einer Hemmungsvorrichtung als Erklärung dieser Steigerung hingewiesen. Die Verminderung bzw. Unterdrückung nach leicht narkotisierenden Gaben konnte er in bezug auf so verschiedene Hyperglykämieformen, wie diejenigen nach Aderlaß, Diuretin und Piqûre konstatieren, und glaubt hierin einen Beweis irgendeines ihnen allen gemeinsamen Mechanismus erblicken zu können. Dieser würde durch die Schmerz hervorrufenden Eingriffe, die sie alle voraussetzten, ausgelöst werden. Wir würden es, mit anderen Worten, hier mit verschiedenen

[1]) Vgl. Borberg, Det kromaffine væys indre Sekretion. Diss. Kopenhagen 1912, S. 138.

[2]) Neubauer, l. c.

[3]) Jacobsen, l. c.

[4]) Diese Zeitschr. 58, 236, 1913.

Beispielen psychischer Hyperglykämie zu tun haben. Bei leichter Narkose würde also im allgemeinen die Empfindung gegenüber sonst als psychischer Chok wirkenden sensiblen oder sensorischen Reizen abgestumpft werden, so daß vom Cortex her den Nebennieren keine Hypersekretion bewirkende Erregung zugeführt wird. Bei einer gewissen Tiefe der Narkose wird nun diese von der beginnenden Lähmung der Gehirnrinde bedingte Wirkung durch, sagen wir, Ausschaltung einer normalen Hemmungsvorrichtung der Adrenalinsekretion oder Adrenalinwirkung überkompensiert. In meinen Versuchen war nun die Narkose ganz gewiß sehr leicht. Nichtsdestoweniger kam hier keine Hemmung zum Vorschein. Fraglich scheint es jedoch, inwieweit gerade die Tiefe der Narkose als der springende Punkt zu betrachten ist. Zwar müssen wir uns vorstellen, daß die Narkotica schon bei mäßig großen Gaben imstande sind, cortical bedingte Sekretionserregungen der Nebennieren mehr oder weniger vollständig zu unterdrücken, und daß diese Wirkung bei größeren Dosen dagegen durch andere nun tätig werdenden Einwirkungen ausgeglichen bzw. überkompensiert werde, und daß also nur bei Gaben innerhalb der so begrenzten Größenbreite eine Verminderung bzw. Unterdrückung der Hyperglykämie bewirkt werden könne. Bei Chloral scheint nun dieser zweite Grenzwert einer Gabe zu entsprechen, die sehr stark narkotisierend wirkt. Dies ist offenbar nicht notwendig, und wenn die hier erwähnte Auffassung gemeingültig ist, verhält es sich beim Opium nicht so. Hier kommt ja offenbar die Hyperglykämiewirkung zustande, bevor die corticalen Funktionen bei weitem noch nicht darniederliegen. Die Tragweite meiner negativen Resultate in bezug auf den Einfluß des Opiums auf die Piqûrehyperglykämie wird nun im Lichte des hier Erwähnten in gewissem Grade beeinträchtigt. Eine erneute Prüfung unter Anwendung von Opiumgaben, die innerhalb der obenerwähnten Größenbreite fallen, was hier ja nicht ganz der Fall war, ist wenigstens sehr erwünscht. Vorläufig habe ich indessen hierauf verzichten müssen.

Die Einwirkung der Opiumalkaloide auf die alimentäre Hyperglykämie nach Glucose.

Während nun den bei der Adrenalin- und der Piqûrehyperglykämie wirksamen Mechanismen wahrscheinlich keine größere Be-

deutung für die Entstehung des Diabetes mellitus zuerkannt werden kann, ist es dagegen nicht zu bezweifeln, daß nicht ein alimentärer Einfluß bei diesem sich in allerhöchstem Grade geltend macht. Nicht nur derart, daß die Glucosurie und gewissermaßen auch die Hyperglykämie hier vom Kohlenhydratgehalt der Nahrung entschieden abhängig sind, und bei den schwierigen Formen die Menge des Eiweißes auch von Bedeutung ist; wir wissen außerdem, daß im Anschluß an eine Einnahme von Glucose eine plötzliche bedeutende Steigerung des Blutzuckergehaltes zustande kommen kann. Es schien darum nicht unmöglich, daß die antiglucosurische Wirkung des Opiums bei Diabetes vielleicht hier ihren Angriffspunkt hätte. Immerhin schien es mir wichtig zu sein, die Wirkung der Opiumalkaloide auch bei einer gewöhnlichen alimentären Hyperglykämie darzutun, da hierüber bisher nichts bekannt war.

Meine diesbezüglichen Untersuchungen sind sämtlich unter Verwendung von Glucose an Kaninchen nach 1 bis 4 Hungertagen angestellt worden. Nach Bang[1]) wird die Hyperglykämie bei Karenztieren stets etwas höher und dauert auch etwas länger als bei wohlgenährten Tieren, was er damit erklärt, daß die Hungerleber nicht sofort für die Glykogenbildung eingestellt sei. Die Glucose wurde in Mengen von 10 g in 100 g Wasser aufgelöst, und körperwarm per Magensonde zugeführt. Zuerst machte ich einige Versuche mit Tinct. opii. Das Resultat findet sich in Tabelle VII zusammengestellt.

An Kaninchen 4 und 2 wurden sowohl Versuche mit Glucose allein, als nach vorheriger Eingabe von Tinct. opii per rectum in Gaben von 1 resp. 2 ccm gemacht. Im Opiumversuch bei Kaninchen 4 wurde 1 ccm Tinct. opii $^1/_2$ Stunde vor der Glucoseeingabe verabreicht, die Hyperglykämie kam ebenso schnell zustande, dauerte ungefähr ebenso lange und wurde sogar bedeutend höher als im reinen Glucoseversuche, obgleich das Anfangsniveau niedriger war. Anders verhält es sich bei Kaninchen 2. Hier wurden zwei Opiumversuche gemacht, der eine mit 2 ccm, der andere mit 1 ccm Tinct. opii, alle beide per rectum 1 Stunde vor der Glucosezufuhr. Die Hyperglykämie war in beiden Versuchen niedriger als im Kontrollver-

[1]) Bang, Der Blutzucker, S. 57 bis 59.

Tabelle VII.

Nummer des Tieres	4		2			5	3
	1 ccm Tinct. opii 1/2 Std. vorher Hunger 4 Tage %	Kontrollversuch ohne Opium Hunger 4 Tage %	Kontrollversuch ohne Opium Hunger 2 1/2 Tage %	2 ccm Tinct. opii 1 Std. vorher Hunger 4 Tage %	1 ccm Tinct. opii 1 Std. vorher Hunger 4 Tage %	3 ccm Tinct. opii 50 Min. vorher Hunger 4 Tage %	5 ccm Tinct. opii zusammen mit der Glykose Hunger 4 Tage %
Blutzucker, präformiert . .	0,06	0,12	0,08	0,09	0,08	0,08—0,13	0,10
„ 1/2 Std. nach d. Glyk.	0,19	0,13	0,12	0,08	0,18	0,15	0,15
„ 1 „ „ „ „	0,32	0,21	0,17	0,14	0,20	0,22	0,19
„ 1 1/2 „ „ „ „	0,30	0,22	0,23	0,16	0,15	0,24	0,25
„ 2 „ „ „ „	0,19	0,23	0,23	0,14	0,17	0,26	0,26
„ 2 1/2 „ „ „ „	0,21	0,22	0,22	0,13	0,16	0,21	0,21
„ 3 „ „ „ „	0,15	0,19	0,14	0,12	0,16	0,16	0,16
„ 3 1/2 „ „ „ „	—	—	—	—	0,16	—	—
„ 4 „ „ „ „	0,11	0,18	0,13	0,10	—	0,17	0,18
„ 4 1/2 „ „ „ „	—	—	—	—	0,12	—	—
„ 5 „ „ „ „	0,15	0,17	0,09	0,09	—	0,15	0,15
„ 5 1/2 „ „ „ „	—	—	—	—	0,12	—	—
„ 6 „ „ „ „	0,11	0,12	0,08	0,12	—	0,13	0,15
„ 6 1/2 „ „ „ „	—	—	—	—	0,13	—	—
„ 7 „ „ „ „	0,09	0,13	0,10	0,11	—	0,10	0,11

such, das Anfangsniveau war in allen Versuchen gleich und, was besonders bemerkenswert, die Hyperglykämie ist am niedrigsten nach 2 ccm Tinct. opii, und sie zeigt hier sowohl in bezug auf die Höhe als den ganzen Verlauf unleugbar eine ziemlich große Ähnlichkeit mit derjenigen Hyperglykämie, die bei demselben Tiere nach alleiniger Darreichung von 2 ccm Tinct. opii zustande kam (vgl. Tabelle I). Hier kann es sich sehr gut um eine völlige Unterdrückung der alimentären Hyperglykämie gehandelt haben. Im Versuche mit 1 ccm Tinct. opii kann dies freilich nicht der Fall sein, da, wie wir gesehen haben, 1 ccm Tinct. opii bei rectaler Eingabe keine Änderung der Blutzuckerkonzentration bewirkt, wobei jedoch zu bemerken ist, daß dies nicht für dasselbe Tier festgestellt worden ist. Die Möglichkeit einer geringeren Hemmung ist immerhin auch hier nicht ausgeschlossen.

Zwei weitere Versuche mit noch größeren Opiumdosen, 3 bzw. 5 ccm Tinct. opii, lieferten keine unzweideutige Entscheidung. In beiden war eine Hyperglykämie vorhanden, die eine Höhe erreichte, die wir nach 10 g Glucose zu finden ge-

wöhnt sind; mit Abzug des vom Opium selbst bedingten Anteiles dieser Erhöhung muß sie jedoch eher als ungewöhnlich niedrig betrachtet werden. Bei Kaninchen 5, bei dem ein Versuch mit 3 ccm Tinct. opii ohne Glucose außerdem vorliegt (vgl. Tab. I), finden wir die Differenz zwischen dem Maximalwert der Hyperglykämie in dem kombinierten Opium-Glucoseversuch und im reinen Opiumversuch von nur 0,09 $^0/_0$, was also hier die wirkliche Höhe der alimentären Hyperglykämie bezeichnen könnte. Da keine Kontrollversuche mit Glucose allein an diesen beiden Tieren 5 und 3 gemacht wurden — die Tiere starben nämlich plötzlich vorher —, können wir auch nicht die Größe einer eventuell vorhandenen Hemmungswirkung des Opiums beurteilen. Bei Tier 3 ist es auch möglich, daß das Opium zu spät in genügender Menge ins Blut übergegangen ist, um Hemmungswirkung ausüben zu können, da dasselbe hier per os gleichzeitig mit der Glucose verabreicht wurde und es, nach allem zu urteilen, ziemlich langsam resorbiert wird.

In Übereinstimmung mit allen früheren Beobachtungen von Bang und anderen ist in keinem von diesen Versuchen Glucosurie eingetreten. In einigen von ihnen war der Harn schon vor dem Versuche schwach reduzierend, wahrscheinlich infolge der starken Konzentration des Hungerurins. Nach den Eingriffen war er stets zuckerfrei.

Nach diesen Versuchen mit Tinct. opii schien es also nicht ausgeschlossen, daß nicht das Opium eine bedeutende Hemmung, ja sogar vollständige Unterdrückung der alimentären Hyperglykämie nach Glucose bewirken könne, aber jedoch erst in einer Menge von wenigstens 2 ccm Tinct. opii, d. h. nach Gaben, die schon an und für sich eine deutliche Steigerung des Blutzuckergehaltes zu bewirken scheinen. Infolge der ebenfalls im allgemeinen ziemlich mäßigen Höhe der alimentären Hyperglykämie wird darum die Differenz zwischen dem Kontrollversuche und dem Opium-Glucoseversuch nur unbedeutend, und die Versuche wirken nicht überzeugend.

Wie wir gesehen haben, können nun die Opiumalkaloide in Form von Pantopon in bedeutend größeren Gaben als in Form von Tinct. opii verabreicht werden, ohne Steigerung des Blutzuckergehalts zu bewirken. Es war darum von Interesse zu sehen, wie die alimentäre Hyperglykämie durch Pantopon in

Tabelle VIII.

Nummer des Tieres	14	14		13		17		18		20			16		19	
	Pantopon 1 × 50 mg	Kontrollvers. ohne Pantopon %	**Pantopon** 3 × 10 mg	**Pantopon** 3 × 20 mg	Kontrollvers. ohne Pantopon %	**Pantopon** 3 × 5 mg	Kontrollvers. ohne Pantopon %	**Pantopon** 3 × 5 mg	Kontrollvers. ohne Pantopon %	Kontrollvers. ohne Pantopon %	**Pantopon** 3 × 2 mg	**Pantopon** 3 × 2 mg	Kontrollvers. ohne Pantopon %	**Pantopon** 3 × 1 mg	Kontrollvers. ohne Pantopon %	**Pantopon** 3 × 1 mg
Blutzucker, ½ Std. vor d. Glykosezuf.	0,08%	0,10	0,07%	0,09%	—	0,08%	—	0,06%	—	0,12	—	0,13%	0,05	—	0,09	0,09%
Pantoponinj. ½ „ „ „ „	**50 mg**	—	**10 mg**	**20 mg**	—	—	—	**5 mg**	—	—	—	**2 mg**	—	**1 mg**	—	—
Blutzucker unmittelb. „ „ „	0,10%	—	0,10%	0,09%	0,08	—	0,10	0,09%	0,10	—	0,11%	0,15%	—	0,05%	—	—
Pantoponinj. „ „ „ „	—	—	**10 mg**	**20 mg**	—	**5 mg**	—	**5 mg**	—	—	**2 mg**	**2 mg**	—	**1 mg**	—	**1 mg**
Blutzucker ½ Std. nach „ „	0,14%	0,23	0,13%	0,13%	0,16	0,09%	0,16	0,08%	0,12	0,22	0,20%	0,24%	0,05	0,05%	0,13	0,15%
Pantoponinj. ½ „ „ „ „	—	—	**10 mg**	**20 mg**	—	**5 mg**	—	**5 mg**	—	—	**2 mg**	**2 mg**	—	**1 mg**	—	**1 mg**
Blutzucker 1 „ „ „ „	0,15%	0,30	0,13%	0,14%	0,18	0,16%	0,20	0,10%	0,19	0,26	0,24%	0,23%	0,13	0,06%	0,19	0,18%
Pantoponinj. 1 „ „ „ „	—	—	—	—	—	**5 mg**	—	—	—	—	**2 mg**	—	—	—	—	**1 mg**
Blutzucker 1½ „ „ „ „	0,23%	0,26	0,13%	0,12%	0,15	0,11%	0,21	0,14%	0,18	0,29	0,22%	0,26%	0,19	0,08%	0,18	0,15%
„ 2 „ „ „ „	0,20	0,25	0,15	0,10	0,12	0,10	0,21	0,16	0,20	0,25	0,19	0,27	0,18	0,09	0,19	0,14
„ 2½ „ „ „ „	0,14	0,19	0,14	0,12	0,10	0,10	0,19	0,13	0,17	0,20	0,20	0,30	0,20	0,10	0,17	0,14
„ 3 „ „ „ „	0,17	0,14	0,16	0,13	0,11	0,18	0,16	0,18	0,14	0,17	0,17	0,28	0,20	0,11	0,14	0,15
„ 4 „ „ „ „	0,12	0,12	0,14	0,14	0,09	0,12	0,12	0,15	0,13	0,14	0,19	0,23	0,12	0,14	0,11	0,14
„ 5 „ „ „ „	0,11	0,11	0,13	0,11	0,11	0,12	0,10	0,11	0,11	0,11	0,15	0,15	0,09	0,12	0,07	0,14
„ 6 „ „ „ „	—	—	0,11	0,08	—	0,10	—	0,09	0,09	—	0,15	0,15	0,06	0,10	0,07	0,09
„ 7 „ „ „ „	—	—	—	0,10	—	0,13	—	0,06	—	—	0,13	—	—	0,09	—	0,10
„ 8 „ „ „ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,12	—	—	0,04	—	—
„ 9 „ „ „ „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,13	—	—	0,05	—	—

nicht hyperglykämiebewirkenden Dosen beeinflußt wird. Meine Versuche hierüber finden sich in vorstehender Tabelle VIII zusammengestellt. An jedem Tiere ist in besonderen Versuchen festgestellt worden, daß das Pantopon in der angewandten Dosierung keine Hyperglykämie bewirkte.

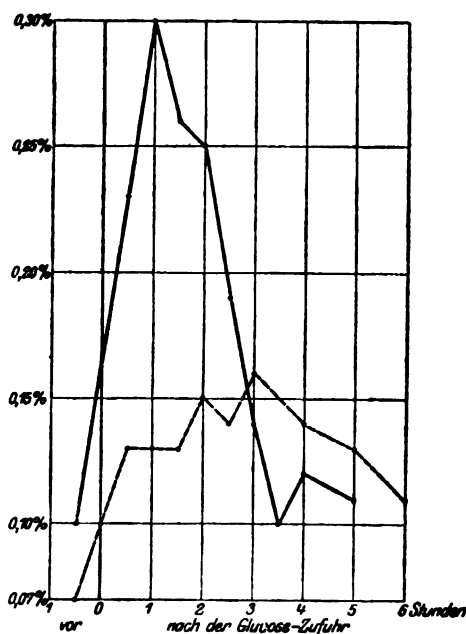


Fig. 1. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose per os bei Kaninchen 14.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
------ 3 mal 10 mg Pantopon.

Wenn wir zuerst die Hyperglykämie in den Kontrollversuchen ohne Pantopon ins Auge fassen (vgl. Fig. 1 bis 7, die ausgezogenen Kurven), sehen wir hier im großen und ganzen eine ausgesprochene Gleichförmigkeit herrschen. Die Steigerung setzt in allen ziemlich schnell ein und steigt rasch zum Maximum, das im allgemeinen schon nach 1, spätestens nach 2 Stunden erreicht wird, bleibt hier nur kurz stehen; oft ist schon nach $^1/_2$ Stunde ein deutliches Sinken eingetreten, und 3 bis 6 Stunden nach der Glucosezufuhr ist das Ursprungsniveau wieder erreicht worden. Die Höhe des Maximums liegt im allgemeinen bei ungefähr 0,20$^0/_0$, zeigt jedoch gewisse individuelle Variationen, beträgt am niedrigsten 0,18, am höchsten 0,30$^0/_0$.

Vergleichen wir hiermit das Verhalten des Blutzuckers in den entsprechenden Pantoponversuchen, so ist die Verschiedenheit und Ungleichmäßigkeit ja sofort auffallend. Im ersten Versuche beim Tiere 14, wo 50 mg Pantopon in einer einzigen Dose $^1/_2$ Stunde vor der Glucoseeingabe injiziert wurden, tritt dies jedoch nicht so stark hervor. Die Steigerung geht zwar nicht ganz so schnell in die Höhe wie im Kontrollversuche,

und das Maximum liegt 0,07 °/₀ tiefer; eine irgendwie stärkere Hemmungswirkung wird aber hierdurch nicht mit Bestimmtheit dargetan[1]). In vielen von den übrigen Versuchen mit wiederholten Pantoponinjektionen ist eine solche indessen kaum zu bestreiten. Bei diesen wurde die Pantoponinjektion halbstündlich dreimal wiederholt, wobei die erste Injektion entweder $^1/_2$ Stunde vor (Tiere 14, 18, 13, 20, 16) oder gleichzeitig mit der Glykoseeingabe (Tiere 17, 19 und 20) gemacht wurde.

Bei Tier 14 sehen wir deutlich, wie 10 mg Pantopon in halbstündlich dreimal wiederholten Injektionen ein ganz bedeutendes Herabdrücken der alimentären Hyperglykämie be-

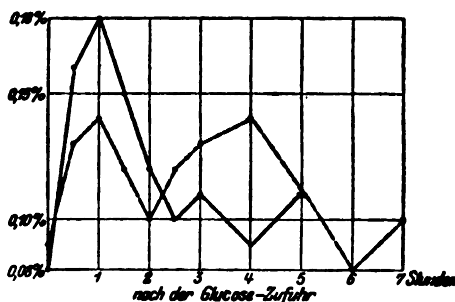


Fig. 2. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose per os bei Kaninchen 13.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
------ 3 mal 20 mg Pantopon.

wirken. Sie tritt nur zögend ein und erreicht ihr kaum mehr als halb so hohes Maximum erst nach 3 Stunden, sinkt dann aber sehr langsam (Fig. 1).

Nach 3 mal 20 mg Pantopon (Tier 13) sehen wir eine andere, aber auch sehr charakteristische Wirkung. Die Kurve (Fig. 2) steigt hier zwar ziemlich rasch; die maximale Steigerung ist indessen auch hier nur ungefähr halb so groß wie im Kontrollversuche, dann sinkt sie wieder schnell herunter bis ungefähr zum Anfangsniveau, um unmittelbar wieder etwas

[1]) Die für eine alimentäre Hyperglykämie nach 10 g Glucose ungewöhnlich hohe Steigerung des Blutzuckers im Kontrollversuche dieses Tieres konnte es vielleicht auch fraglich erscheinen lassen, inwieweit nicht eine psychische Hyperglykämie infolge des Schrecks beim Aufbinden am Brett, Einführung der Magensonde usw. sich an die eigentliche alimentäre Hyperglykämie hier hinzugesellt hätte, und die Verminderung nach der

langsamer bis zum früheren Maximum zu steigen. Dann erst beginnt sie definitiv zu sinken, um nach 6 Stunden die Abszisse zu erreichen. Die Hyperglykämie verläuft also hier zwar in die Länge ausgezogen, aber auf einer niedrigeren, deutlich oszillierenden Ebene. Ein ähnliches Oszillieren, nur bedeutend stärker ausgesprochen, finden wir bei Tier 17 nach 3 mal 5 mg Pantonpon (Fig. 3). Die erste Steigerung trat hier ganz plötzlich nach 1 Stunde ein, sank sofort wieder bis nahe zum Anfangsniveau hinunter, hielt sich hier ein paar Stunden, dann

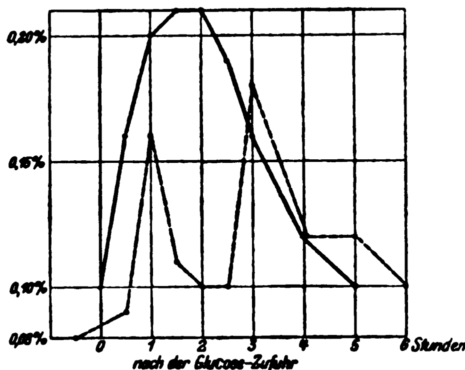


Fig. 3. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose bei Kaninchen 17.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
------ 3 mal 5 mg Pantopon.

finden wir 3 Stunden nach der Zuckerzufuhr eine erneute, ebenso plötzliche Steigerung, die wieder schnell zurückgeht.

Bei Tier 18, ebenfalls nach 3 mal 5 mg Pantopon (Fig. 4), ist dagegen die Wirkung nicht so deutlich zu ersehen. Zwar kommt hier die Hyperglykämie im ganzen zögernd zustande

Pantoponinjektion also nur durch den hierdurch bedingten Wegfall der psychischen Erregung bewirkt worden wäre. Jacobsen (l. c.) sah ja mitunter eine Hyperglykämie auftreten, wenn die Kaninchen auf dem Operationstisch ausgespannt waren, ohne daß sonst etwas mit ihnen geschah. Hierzu will ich nur bemerken, daß ich, nachdem man in hiesigem Institute auf diese Schreckhyperglykämie aufmerksam geworden war, bei mehreren meiner Tiere und gerade auch bei dem Tiere 14 sowohl als auch beim Tiere 13 Blindversuche auf die Weise angestellt habe, daß 100 ccm körperwarmes Wasser per Magensonde ganz so wie in den Versuchen mit Zufuhr von Glucose eingeführt wurden. In keinem von diesen Versuchen sah ich eine Steigerung des Blutzuckers.

und nicht ohne Andeutungen von Oszillationen; sie erreicht ihr Maximum erst nach 3 Stunden, die Steigerung ist aber, wenigstens relativ, ebenso groß wie im Kontrollversuche.

Am Tier 20 machte ich zwei Versuche mit 3 mal 2 mg (Fig. 5). In dem einen Versuche stimmt die Hyperglykämiekurve ziemlich gut mit dem Kontrollversuche überein, hat sich nur ein wenig verschoben, so daß ihr sonst gleichgroßes Maximum 1 Stunde später erreicht wird. In den anderen Versuchen kommt vielleicht eine gewisse Andeutung einer Hemmungs-

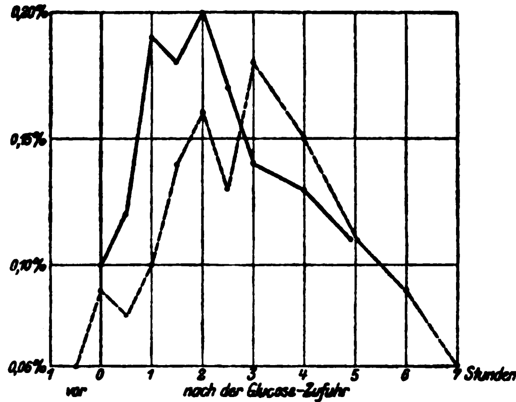


Fig. 4. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose per os bei Kaninchen 18.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
------ 3 mal 5 mg Pantopon.

wirkung zum Vorschein. Die Steigerung erreicht zwar schnell ihr Maximum, dieses ist aber, wenn auch nicht bedeutend, so doch entschieden niedriger als im Kontrollversuche, und geht dann ziemlich langsam unter kleinen Oszillationen wieder hinunter. Möglicherweise kann das ungleiche Verhalten in den beiden Versuchen durch Verschiedenheiten in bezug auf die Zeit der Pantoponinjektionen erklärt werden. Im ersterwähnten Versuche wurde die erste Injektion nämlich $^1/_2$ Stunde vor, hier erst gleichzeitig mit der Glucosezufuhr gemacht. Die Wirkung kleinerer Pantopongaben würde also schnell vorübergehend sein, so daß mehrmals wiederholte Injektionen während der nächsten Zeit nach der Zufuhr des Traubenzuckers erforderlich seien, um sie hervorzurufen. Für diese Auffassung ließe sich auch das Verhalten in den beiden schon erwähnten

Versuchen mit 3 mal 5 mg Pantopon anführen. Bei Tier 18 wurde ja die erste Injektion $^1/_2$ Stunde vor der Glucosezufuhr, die letzte also $^1/_2$ Stunde nach dieser gemacht, und gerade bei diesem Tiere war ja die Hemmungswirkung nur wenig deutlich ausgesprochen.

Während nun bei den letzterwähnten Versuchen die Wirkung also immerhin als unsicher bezeichnet werden muß, ist es interessant zu sehen, daß bei gewissen Tieren eine sichere

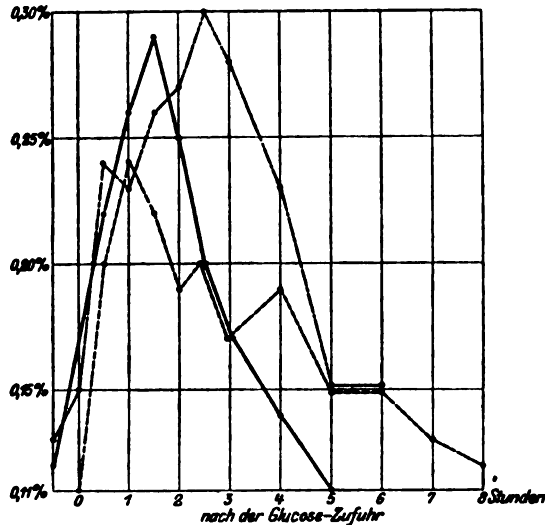


Fig. 5. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose per os bei Kaninchen 20.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
-·-·-·- / - - - - } 3 mal 2 mg Pantopon.

Hemmung schon durch 3 mal 1 mg bewirkt werden kann. Auf andere Weise ist der Versuch am Kaninchen 16 wohl kaum zu deuten (Fig. 6). Nicht nur liegt das Maximum hier 0,06 % niedriger, es wird auch nur sehr langsam erreicht, erst nach 4 Stunden, geht dann ziemlich langsam zurück und die Norm wird erst nach 8 Stunden wieder erreicht. Bei Tier 19 dagegen hat das Pantopon in gleicher Dosierung keine solche deutliche Hemmung bewirkt (Fig. 7), die Kurve steigt ebenso steil und zu derselben Höhe wie im Kontrollversuche, nur ist zu bemerken, daß sie sofort wieder sinkt und nun einige Stunden auf mäßiger Höhe verharrt, bis sie dann nach

5 bis 6 Stunden schnell hinuntergeht. Die erste schnell vorübergehende Initialsteigerung abgerechnet, hielt sich die Hyper-

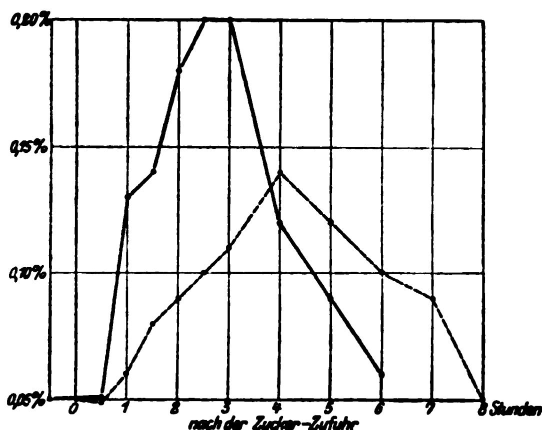


Fig. 6. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose per os bei Kaninchen 16.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
——— 3 mal 1 mg Pantopon.

glykämie also hier auf einem ziemlich niedrigen Niveau, auf dem sie dafür etwas länger stehen blieb. Es ist wohl kaum fehlzugreifen, hier eine Hemmungswirkung desselben Typus wie



Fig. 7. Blutzuckergehalt nach 10 g Glucose per os bei Kaninchen 19.
——— Kontrollversuch ohne Pantopon.
——— 3 mal 1 mg Pantopon.

beim ersten Versuche am Tier 20, wenn auch nicht stark ausgesprochen, so doch angedeutet zu erblicken: eine auf niedrigem Niveau verlaufende, in die Länge ausgezogene Hyperglykämie-

kurve. Hier wie dort begann die Opiumzufuhr erst gleichzeitig mit der Zuckerzufuhr. Immerhin ist die Wirkung hier nicht so kräftig wie bei Tier 16 gewesen, wo die Injektion gleichwohl nur einmal nach der Zuckereinnahme wiederholt wurde.

Wenn ich die hier vorgelegten Tatsachen zusammenstelle, komme ich also zu dem Schlusse, daß die Opiumalkaloide unbestreitbar einen hemmenden Einfluß auf die alimentäre Hyperglykämie ausüben können, so daß diese entweder, wie nach größeren Gaben, deutlich, ja sogar beinahe völlig unterdrückt wird oder bei kleineren Gaben sehr langsam ihre Höhe erreicht, nach einer kurzen initialen Steigerung schnell zur mäßigen Höhe sinkt oder sich sogar nur als unstetige, kurzdauernde Steigerungen zeigt. Nach allem zu urteilen, kommt eine Hemmung größerer Intensität erst durch eine im Anfang des Versuchs eine gewisse Zeit anhaltende Opiumeinwirkung bestimmter Stärke zustande, z. B. derjenigen entsprechend, die durch wenigstens dreimal halbstündlich wiederholte Injektionen von ungefähr 10 mg Pantopon bedingt wird. Eine Schwierigkeit hierbei liegt nun darin, daß wegen der individuell verschiedenen Empfindlichkeit des Kaninchens gegenüber der blutzuckersteigernden Eigenwirkung der Opiumalkaloide diese letztere schon zuvor in Tätigkeit tritt und die Hemmung deutlich zum Vorschein zu kommen verhindert. Es ist darum nicht zu verwundern, wenn bei vielen Tieren keine sichere Hemmung sich nachweisen läßt, da die hierzu erforderlichen Opium- oder Pantoponmengen schon an und für sich eine Steigerung des Blutzuckergehalts bewirken, und also umgekehrt bei einer Dosierung von der Art und Größe, daß dies vermieden wird, Opiumalkaloide nicht in genügender Menge zugeführt werden, um Hemmung ausüben zu können. Speziell bei Opium bzw. dessen Tinktur scheint dieser Umstand mißlich.

Daß den Opiumalkaloiden ein spezifisch hemmender Einfluß auf die alimentäre Hyperglykämie zukommt, ist also kaum zu bezweifeln, wenn es auch wegen der erwähnten Umstände in einzelnen Fällen schwierig sein kann, sie sicher und deutlich zu konstatieren. Unsere nächsten Fragen sind nun: Wie sollen

wir uns diese Wirkung erklären, und spielt sie auch für das Zustandekommen des therapeutischen Effekts des Opiums bei Diabetes mellitus irgendeine Rolle? In bezug auf die erste Frage wäre zunächst nachzusehen, ob diese Hemmung nicht in Zusammenhang mit einer irgend schon bekannten Wirkung der Opiumalkaloide gesetzt werden könnte. In erster Linie ist hier an den von verschiedenen Seiten behaupteten verzögernden Einfluß auf den Entleerungsmechanismus des Ventrikels zu denken.

Bei Duodenalfistelhunden sah Hirsch[1]) nach Morphium und Rodari[2]) nach Pantopon eine bedeutende Verzögerung der Magenentleerung. Während in den Kontrollversuchen Mageninhalt nach längstens 10 Minuten aus der Fistel herauszufließen begann, wurde dies nach der betreffenden, medikamentösen Behandlung 1 Stunde oder mehr verzögert. In einem Versuche von Magnus[3]) mit Morphium dauerte es sogar 5 Stunden, ehe der Mageninhalt aus der Fistel herauskam.

Magnus hat auch röntgenologisch an Katzen feststellen können, daß die Kontrastmahlzeit durch Morphiumbehandlung bei gewissen Tieren, wenigstens teilweise, $^1/_2$ bis 1 Stunde oberhalb der Cardia, bei allen aber im Fundusteil mehrere Stunden zurückgehalten wird. Sofort nach dem Übertritt in den Pylorusteil setzten peristaltische Antrum-Bewegungen normaler Stärke und Frequenz ein. Es dauerte auch oft $1^1/_2$ bis 2 Stunden nach der Fülle des Pylorusteils bis zum ersten Übertritt in das Duodenum, und erst nach weiteren 7 bis 25 Stunden war der Magen völlig leer. In den Normalversuchen dagegen füllte die Kontrastmahlzeit den Fundus und Pylorusteil sofort gleichmäßig, ging schon nach $^1/_4$ Stunde in das Duodenum über, und $3^1/_2$ Stunden später hatte der Magen sich völlig entleert. Der Hund verhielt sich in ähnlicher Weise. „Morphium wirkt also", sagt Magnus, „nicht ruhigstellend auf den Magen, sondern nur auf den Mageninhalt, und zwar dadurch, daß die drei Sphincteren des Magens für die Nahrung schwerer passierbar werden. Die Hauptrolle spielt dabei die Magenmitte (das Sphincter antri pylori), durch welche die Speisen stundenlang im Fundus festgehalten werden."

---

[1]) Hirsch, Centralbl. f. inn. Med. 1901, S. 33.
[2]) Rodari, Therapeutische Monatshefte 23, 540, 1909.
[3]) Magnus, Arch. f. d. ges. Physiol. 122, 210, 1908.

Magnus wollte sogar die klinisch wohlbekannte stopfende Wirkung der Opiate eben durch diese Verzögerung und Verlangsamung der Magenentleerung erklären. Wenn auch diese Deutung sich kaum als richtig erwiesen hat, so kann über die Richtigkeit der erwähnten Beobachtungen kaum ein Zweifel bestehen. Sie sind auch im großen und ganzen von Schwenter[1]) bei Katzen sowohl nach Morphium als auch nach Pantopon und Opium bestätigt worden; nur fand er die Beeinflussung nicht völlig in dem Maße wie Magnus. Auch bei Menschen hat man, wenn auch nicht konstant, so doch sehr oft eine bedeutende Verzögerung der Magenentleerung durch Opium bzw. Pantopon und Morphium röntgenologisch feststellen können [Stierlin und Schapiro[2]), Arnsperger[3]), van den Welden[4]), Alweus und Rauth[5]), Mahlo[6])].

Hirsch[7]) sah die Morphiumwirkung mit solcher Präzision an Duodenalfistelhunden eintreten, daß er meint, man könnte daran denken, „die Morphiuminjektion bei Studien über Resorption von Flüssigkeiten aus dem Magen statt Pylorusabbindung zu benutzen". Im Anschluß hierzu machte auch Baas[8]) einige Untersuchungen über die Resorption des in den Magen eingeführten Jodkaliums, die in gewisser Beziehung sich analog mit meinen Glykosefütterungsversuchen verhielten. Er fand nämlich, daß die Resorption bei dem Kaninchen und Menschen durch Morphium bedeutend verzögert wurde, so daß Jodreaktion im Harn bzw. Speichel bis mehrere Stunden später auftrat als in den Kontrollversuchen, und deutet dieses Verhalten als eine Hemmungswirkung des Morphiums auf die Magenentleerung.

Wir greifen wohl darum kaum fehl, wenn wir also

---

[1]) Schwenter, Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen **19**, 1, 1912.

[2]) Stierlin und Schapiro, Münch. med. Wochenschr. **1912**, Nr. 50.

[3]) Arnsperger, Verhdl. d. deutsch. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1910, S. 332.

[4]) van den Welden, Verhdl. d. deutsch. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1910, S. 339.

[5]) Zitiert nach Faust, Münch. med. Wochenschr. **1912**, S. 2491.

[6]) Mahlo, Deutsches Arch. f. klin. Med. **110**, 562, 1913.

[7]) Hirsch, l. c.

[8]) Baas, Deutsches Arch. f. klin. Med. **180**, 455, 1904.

den nachgewiesenen hemmenden Einfluß der Opiumalkaloide auf die alimentäre Hyperglykämie in Zusammenhang mit ihrer schon bekannten Wirkung auf die Entleerung des Magens setzen. Im Magen wird nichts resorbiert, oder jedenfalls geht die Resorption hier äußerst langsam[1]) und „die Verzögerung der Entleerung bewirkt es, daß", um mit Magnus zu reden, „der Darm nicht wie bei normalen Tieren innerhalb kurzer Zeit die ganze Nahrungsmenge zur Verarbeitung erhält, sondern langsam, allmählich und in kleinen Portionen die Produkte der Magenverdauung zur Weiterverarbeitung überliefert bekommt". Hierdurch erklärt sich die Verzögerung, Verminderung, Unstetigkeit usw. der Hyperglykämie sehr gut.

Auf die zweite Frage, inwieweit die hier nachgewiesene Hemmungswirkung irgendwelche Rolle bei dem Zustandekommen der antiglucosurischen Wirkung der Opiate bei Diabetes mellitus spielt, will ich hier nur in aller Kürze dies antworten, daß ich wirklich bei mehreren Diabetespatienten zeigen konnte, daß die alimentäre Blutzuckersteigerung nach 100 g Brot deutlich durch Opium in der Richtung einer Verzögerung und Verminderung beeinflußt wird. Allerdings ist dies nicht konstant zu beobachten, und andererseits ist zu bedenken, daß die praktischen Resultate der Opiumtherapie ja gerade in denjenigen Fällen erhalten werden, die bei kohlenhydratfreier Diät fortwährend Zucker ausscheiden, und wo dieser also nach gewöhnlich gehegter Auffassung aus Eiweiß entstanden ist. Ob die Wirkung hier auf ähnliche Weise ausgelöst wird, ist vielleicht zweifelhaft. Nach meinen bisherigen Beobachtungen zu urteilen, scheinen mir die Dinge hier sehr kompliziert zu liegen. Mit weiteren Versuchen hierüber bin ich gerade jetzt beschäftigt, und ich behalte mir die Bearbeitung dieser Frage ausdrücklich vor.

Zusammenfassung.

1. Auf die Hyperglykämie und Glucosurie nach Adrenalininjektion und Piqûre konnte keine sichere Einwirkung der Opiumalkaloide konstatiert werden.

2. Die alimentäre Hyperglykämie nach Glucose kann dagegen ohne Zweifel hierdurch mehr oder

[1]) Vgl. Albertone, Ergebn. d. Physiol. 1914, S. 440.

weniger gehemmt werden. Bei Tinct. opii kommt diese Wirkung jedoch im allgemeinen erst nach solchen Gaben zustande, die selbst Steigerung des Blutzuckers bewirken, und hierdurch wird sie leicht verhindert, in Erscheinung zu treten. Am deutlichsten sehen wir die Hemmungswirkung bei nicht allzu opiumempfindlichen Tieren nach in kurzen Pausen vor und nach der Fütterung einigemal wiederholten Injektionen von Pantopon in solcher Menge, daß hierdurch an und für sich keine Änderung des Blutzuckergehaltes zustande kommt.

3. Sehr wahrscheinlich ist diese Hemmungswirkung als eine Folge des von verschiedenen Seiten konstatierten verzögernden und verlangsamenden Einflusses der Opiumalkaloide auf den Entleerungsmechanismus des Ventrikels aufzufassen.

Zur physiologischen Wirksamkeit von Organextrakten.

Von

F. Haffner und A. Nagamachi.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.)

(Eingegangen am 14. März 1914.)

Auf der Suche nach spezifischen inneren Sekreten haben sich zahlreiche Untersuchungen mit der physiologischen Wirksamkeit von Organextrakten befaßt. Dabei gelangte man jedoch schließlich zu dem Resultat, daß die allermeisten (insbesondere die in akuten Versuchen oder an überlebenden Organen festgestellten) physiologischen Wirkungen der Extrakte in keiner Weise spezifisch für bestimmte Organe sind. Die Mehrzahl der Autoren vertritt deshalb nunmehr den Standpunkt, daß diese Extraktwirkungen zu den Funktionen der Organe im Leben in keiner Beziehung stehen und durch bestimmte, allen Extrakten tierischer Gewebe mehr oder weniger gemeinsame Substanzen bedingt werden. Schon ehe diese Auffassung allgemeinere Annahme gefunden hatte, waren einige solcher ubiquitär vorkommender, physiologisch stark wirksamer Stoffe gefunden und chemisch charakterisiert worden.

So konnten verschiedene Autoren in einer Reihe von Extrakten das physiologisch stark wirkende Cholin[1]) nachweisen. Popielski[2]) und seine Mitarbeiter[3]) führten verschiedene Extraktwirkungen auf einen gemeinsamen, chemisch nicht sichergestellten Körper, das Vasodilatin, zurück. Neuerdings zeigt sich mehr und mehr die große Bedeutung, die in dieser Beziehung gewissen Eiweißabkömmlingen zukommt; es gehören hierher die von den aromatischen Eiweißaminosäuren abstammenden Amine[4]), zu denen auch das Adrenalin zu rechnen ist, ferner gewisse hochmolekulare, der Plasteinbildung noch fähige Eiweißspalt-

---

[1]) Vgl. Biedl, Innere Sekretion, 2. Aufl., II. Teil, S. 43ff.

[2]) Popielski, Arch. f. d. ges. Physiol. 128, 191.

[3]) Modrakowski, Arch. f. d. ges. Physiol. 133, 291.

[4]) Vgl. Guggenheim, Therap. Monatsh. 1913, 508.

produkte[1]), auf die die ursprünglich den Peptonen zugeschriebenen Wirkungen zurückzuführen sind. Schließlich wurden von Iscovesco[2]) Substanzen, die durch ihre Löslichkeitsbedingungen als Lipoide gekennzeichnet wurden, für gemeinsame Wirkungen verschiedener Extrakte verantwortlich gemacht.

Die folgenden Untersuchungen an Extrakten von Schilddrüsen und Ovarien vom Rind geben einen weiteren Beitrag in dieser Richtung; sie befassen sich vor allem mit Versuchen am überlebenden Uterus von Meerschweinchen und Ratte; außerdem wurden auch die Wirkungen dieser Extrakte auf den überlebenden Arterienstreifen vom Rind, auf Blutdruck und Atmung von Katzen und Kaninchen und auf die Gefäßweite des isolierten Kaninchenohrs untersucht.

Extraktbereitung.

Die von Schlachttieren stammenden Organe wurden zerkleinert und mit Quarzsand und Wasser zu einer dicken Emulsion verrieben, diese sofort zentrifugiert, der Abguß mit Alkohol gefällt, das Filtrat nach Verdampfen des Alkohols im Vakuum ein zweites Mal gefällt und das nunmehrige Filtrat im Vakuum bis auf eine schmierige, gelbliche Masse eingeengt. Dieser Rückstand wurde in physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen und so eingestellt, daß 1 ccm Extrakt 1 g frischer Drüse entsprach. Der so gewonnene Gesamtextrakt, eine gelbliche, milchige Flüssigkeit, wurde im Schütteltrichter bei stark saurer Reaktion mit Äther ausgeschüttelt, bis die milchige Trübung verschwunden war. Die klare, gelbliche, wässerige Fraktion wurde nach Vertreiben des zurückgehaltenen Äthers und nach sorgfältiger Neutralisierung gegen Phenolphthalein für sich untersucht, und ebenso die ätherische Fraktion, indem der nach Verdampfen des Äthers verbleibende Rückstand in physiologischer NaCl-Lösung emulgiert und auf die Menge des Gesamtextraktes gebracht wurde.

A. Versuche am Meerschweinchenuterus.

Die Anordnung entsprach der bekannten, von Kehrer[3]) angegebenen. Das ausgeschnittene Uterushorn war in einer Ringer-Lösung von 37° aus-

[1]) Vgl. v. Knaffl-Lenz und Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 296 und Baehr und Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74, 73.

[2]) Compt. rend. 155, 1104.

[3]) Arch. f. Gynäk. 81, 129.

gespannt, durch die ein gleichmäßiger O_2-Strom perlte. Mittels eines Hebelzeigers wurden die Längenänderungen des Präparats auf einer berußten Trommel aufgeschrieben. Die Menge der Ringer-Lösung, in die der Uterus tauchte, betrug 100 ccm; der zu prüfende Extrakt wurde in Mengen von höchstens einigen Kubikzentimetern zu diesen 100 ccm stets in derselben Weise zugegeben. Wegen der bekannten, mit dem Funktionszustand wechselnden Empfindlichkeit des Uterus wählten wir nur jungfräuliche Tiere aus.

1. Wirkung des ungetrennten Extrakts (Gesamtextrakt).

Wurde zu der den Uterus umspülenden Ringer-Lösung ungefähr 1 ccm vom Gesamtextrakt der Schilddrüse zugesetzt, so trat alsbald eine intensive, die Höhe der normalen Spontancontractionen weit übersteigende Contraction ein; im Zustande maximaler Contraction verharrte der Uterus längere Zeit und kehrte, falls er in der Extraktmischung belassen wurde, erst allmählich unter sehr langsamer Erschlaffung zur normalen Tätigkeit zurück; Waschen des Präparats mit Ringer-Lösung führte dagegen sofort Erschlaffung und normalen Rhythmus herbei. Geringere Extraktmengen riefen keine maximale Contraction hervor, sondern erzeugten (von 0,1 ccm ab) eine mehr oder weniger starke Tonuserhöhung. Bei größeren Dosen trat die Erholung nicht mehr spontan ein, sondern erst nach Ersatz der Extraktlösung durch reine Ringer-Lösung.

Der Ovarialextrakt zeigte eine vollkommen gleichartige Wirkung, und zwar ebenfalls bei ungefähr denselben Dosen.

Beide Extrakte stimmten somit in ihrem physiologischen Verhalten überein. Vorgreifend sei erwähnt, daß dieselbe vollständige Übereinstimmung auch im ganzen Verlauf der folgenden Untersuchungen, insbesondere auch gegenüber anderen physiologischen Versuchsobjekten, wiedergefunden wurde. Den vorliegenden Extrakten scheint also eine für das Organ, von dem sie stammen, spezifische Wirkung nicht zuzukommen.

2. Wirkung der ätherischen Fraktion.

Die Wirkung des ätherlöslichen und nach Vertreiben des Äthers in NaCl-Lösung emulgierten Anteils unserer beiden Extrakte bestand in einer momentan einsetzenden, steil ansteigenden und lange Zeit in maximaler Verkürzung verbleibenden Contraction; sie war mit der Wirkung des Gesamtextrakts vollständig identisch.

4*

Das Aussehen und chemische Verhalten des ätherlöslichen Anteils (opake, stark schäumende Lösung bei alkalischer, Eintritt einer Trübung bei saurer Reaktion; ferner Bildung eines Niederschlags bei Zusatz von Erdalkalien [$CaCl_2$ und $BaCl_2$] und Bleiacetat) ließ auf einen reichlichen Gehalt an Fettsäuren bzw. ihren Seifen schließen.

Wir vermuteten nun, daß die physiologische Wirkung der ätherischen Fraktion auf diesem Gehalt an Seifen beruhe. Diese Annahme fand in Versuchen mit chemisch reinen Seifen ihre Bestätigung, indem Natrium oleinicum (Kahlbaum) und durch Natronlauge neutralisierte Ricinolsäure (Merck) ein mit unseren Extrakten vollständig übereinstimmendes Wirkungsbild am Uterus zeigten, nämlich eine intensive Contractionserregung und Tonussteigerung. Außerdem konnte die Wirksamkeit unserer ätherlöslichen Fraktionen durch $CaCl_2$-Zusatz, wodurch die Fettsäuren und ihre Alkaliseifen als unlösliche Kalkseifen ausfielen, vollständig aufgehoben werden: sowohl das nach Ausfällung mit $CaCl_2$ gewonnene klare Filtrat, wie auch die mit $CaCl_2$ versetzte, nicht filtrierte Extraktlösung war selbst in 10facher Menge der sonst maximal wirksamen Dosis wirkungslos.

Durch diese beiden Tatsachen dürfte sichergestellt sein, daß die Wirksamkeit der ätherischen Fraktion unserer Extrakte ausschließlich auf ihrem Gehalt an Fettsäuren bzw. deren Seifen beruht.

Dieser Befund erinnert an die viel untersuchte hämolytische Eigenschaft der Organextrakte, als deren Ursache längst Fettsäuren bzw. Seifen erkannt sind. Darauf gerichtete Versuche zeigten in der Tat ein der Uteruswirkung vollkommen parallelgehendes Hämolysevermögen der Gesamtextrakte und ihrer ätherischen Fraktionen, und ebenso die Aufhebung beider Wirkungen durch $CaCl_2$.

3. Wirkung der wässerigen Fraktion.

Die wässerige Fraktion zeigte ebenfalls eine starke contractionserregende Wirkung. Diese Wirkung kann jedoch nicht auf etwa zurückgehaltener Seife beruhen. Denn die Fraktion blieb auch beim Ansäuern vollkommen klar. Wiederholtes Ausschütteln mit Äther änderte nichts an ihrer Wirksamkeit. Ebenso war auch durch $CaCl_2$-Zusatz die Uterus-

wirkung nicht aufzuheben, was andererseits bei der ätherischen Fraktion der Fall war. Außerdem war auch offensichtlich das Wirkungsbild nicht ganz übereinstimmend mit dem des ätherlöslichen Anteils. Diese verschiedenartige Wirkungsweise der beiden Fraktionen zeigt sich am schönsten beim Rattenuterus.

B. Versuche am Rattenuterus.

Die Anordnung war wie bisher. Es wurden wiederum nur jungfräuliche Tiere verwendet. Der Rattenuterus reagiert nach den Versuchen Guggenheims[1]) in sehr typischer Weise auf die verschiedenen physiologisch wichtigen Amine mit einer Erschlaffung. Wie wir feststellen konnten, wirkt auch das Adrenalin[2]) am Rattenuterus in allen Fällen, genau so wie die übrigen Amine, erschlaffend.

1. Wirkung des Gesamtextraktes wie auch seiner ätherischen Fraktion.

Gesamtextrakt und ätherische Fraktion zeigten am Rattenuterus ebenso wie am Meerschweinchenuterus eine ganz übereinstimmende Wirkung. Sie bestand in einer Zunahme des Tonus und einer längern Dauer der maximalen Contraction, trat aber hier erst in 5mal höheren Dosen auf als beim Meerschweinchenuterus. Die Wirkung konnte durch $CaCl_2$ vollständig aufgehoben werden.

2. Wirkung der wässerigen Fraktion.

Die Wirkung der wässerigen Fraktion war der des Gesamtextraktes und der ätherischen Fraktion vollständig entgegengesetzt: Tonusabnahme, kleiner und langsamer werdende Contractionen, schließlich Stillstand der Spontantätigkeit in maximaler Erschlaffung. $CaCl_2$ war ohne Einfluß auf die Wirksamkeit dieser Fraktion. Während die Tonussteigerung des Gesamtextraktes erst bei Dosen von ca. 5 ccm deutlich war, war die Tonusherabsetzung seines wasserlöslichen Anteils schon bei 1 bis 2 ccm maximal. Es gelang also, in unsern Organ-

---

[1]) Therap. Monatsh. 1912, 795.

[2]) Die Adrenalinwirkung am Meerschweinchenuterus besitzt nach unsern Versuchen sowohl eine erschlaffende, wie eine contractionssteigernde Komponente. Mit zunehmendem Tonus des Uteruspräparats tritt die erschlaffende Wirkung in den Vordergrund.

extrakten durch Entfernung der ätherlöslichen Bestandteile eine neue, im Wirkungsbild des Gesamtextraktes nicht angedeutete und von ihm vollständig verschiedene Wirkung nachzuweisen.

Die wirksame Substanz der wässerigen Fraktion ist, wie schon am Meerschweinchenuterus festgestellt wurde, sicher keine Seife.

Um festzustellen, ob vielleicht das vielfach für Extraktwirkungen verantwortlich gemachte Cholin dabei beteiligt sei, prüften wir einige Körper der autonomerregenden Cholingruppe am Rattenuterus: Cholin hydrochloricum (Merck), Muskarin synthet. (Grübler) und Pilocarpin. Sie riefen übereinstimmend eine der Gesamtextraktwirkung ähnliche Tonussteigerung hervor, wirkten also gerade entgegengesetzt wie die wasserlösliche Fraktion.

Das autonomlähmende Atropin, vorher der Ringer-Lösung zugesetzt, verhinderte jede Wirkung der autonomerregenden Körper, nachträglich zugegeben hob es die bereits eingetretene Tonussteigerung prompt auf. Auf die Wirkung der wasserlöslichen Fraktion hatte dagegen Atropin, vorher oder nachträglich zugesetzt, nicht den geringsten Einfluß.

Eine Beteiligung von Cholin bei der Wirksamkeit der wässerigen Fraktion dürfte hiermit ausgeschlossen sein. Auf Grund der gleichartigen Wirkungsweise am Rattenuterus darf vielleicht eine Zugehörigkeit der wirksamen Substanz zu den Aminen vermutet werden.

Was nun die physiologische Bedeutung der wirksamen Stoffe unserer Extrakte betrifft, so wurde schon einleitend die allgemeine Anschauung wiedergegeben, daß Schlüsse auf die Funktionen von Organen im lebenden Organismus aus den Wirkungen ihrer Extrakte nicht angängig sind. Nach unseren Versuchen will es uns sogar scheinen, als ob die physiologische Wirksamkeit der in den Extrakten festzustellenden wirksamen Stoffe in normalen, lebensfrischen Organen irgendwie verdeckt sei und erst durch den Gang der Extraktbereitung in Erscheinung trete. Für die wirksame Substanz der wässerigen Fraktion schließen wir dies aus dem Auftreten ihrer Wirkung erst nachÄtherausschüttlung des Gesamtextraktes; für die Seifen, den wirksamen Stoffen unserer Ätherextrakte

ist es jedenfalls nach den zahlreichen Untersuchungen über die hämolytische Wirkung der Organextrakte als feststehende Tatsache anzusehen, daß ihre Wirkung erst auftritt, wenn das Organ oder der Extrakt autolytischen Veränderungen ausgesetzt war.

Anhangsweise folgen noch einige Beobachtungen über die Wirkungen unserer Extrakte auf andere biologische Objekte.

C. Versuche am Arterienstreifen.

Gefäßstreifen von der Rindercarotis wurden nach der von O. Meyer[1]) angegebenen Anordnung untersucht. Die Gesamtextrakte von Schilddrüse und Ovarien veranlaßten eine gleichartige, langsam ansteigende und ebenso langsam abklingende Contraction des Gefäßstreifens.

D. Versuche an Katzen und Kaninchen bei intravenöser Injektion.

Katzen und Kaninchen erhielten unter Registrierung von Blutdruck und Atmung die Extrakte langsam in die Jugularvene injiziert.

An der Katze war der Gesamtextrakt und ebenso die ätherische Fraktion bis zu 50 ccm ohne jede ersichtliche Wirkung. Die wässerige Fraktion führte von den ersten Kubikzentimetern ab zu einer Blutdrucksenkung. Ihre Intensität zeigte sich in hohem Grad abhängig von der Einlaufgeschwindigkeit; eine Senkung trat nur bei einer genügenden Raschheit des Einlaufs ein (ein gleich rascher Einlauf von NaCl-Lösung machte übrigens keine Senkung); bei langsamerem Einlauf blieb die Senkung aus, eine bereits eingetretene blieb auf dem eben eingenommenen Stand bestehen oder ging wieder langsam zurück. Dieselbe Abhängigkeit der Blutdrucksenkung von der Einlaufgeschwindigkeit ist übrigens verschiedentlich bei Organextrakten gefunden worden, z. B. beim Hormonal[2]).

Beim Kaninchen war der Gesamtextrakt wie bei der Katze wirkungslos. Die wässerige Fraktion machte beim Kaninchen keine Blutdrucksenkung. Dagegen zeigte hier die emulsionsartige Ätherfraktion eine außerordentlich toxische Wirkung, indem ca. 10 ccm der Lösung in jedem Falle den

[1]) Zeitschr. f. Biol. 48, 352.

[2]) E. Schlagintweit, Arch. int. de Pharm. et de Thér. 28, 87.

Tod der mittelgroßen Tiere herbeiführte. Das Vergiftungsbild bestand in einem ungefähr nach 5 ccm einsetzenden rapiden Blutdruckabfall und darauffolgendem Atemstillstand; das Herz schlug noch länger weiter. Die Blutdrucksenkung war von der Einlaufgeschwindigkeit vollkommen unabhängig und steht wohl in keinem Zusammenhang mit der Blutdrucksenkung der wässerigen Fraktion bei Katzen.

E. Versuche mit Durchströmung des Kaninchenohrs.

Zur Feststellung der direkten Wirkung auf die Gefäße prüften wir den Einfluß der wässerigen Fraktion auf die Gefäße des mit Ringer-Lösung durchströmten Kaninchenohrs nach der Methode von Krawkow-Bissemski. Die emulsionsartige Beschaffenheit des Gesamtextraktes und der ätherischen Fraktion schloß diese von der Untersuchung aus. Die wässerige Fraktion ergab eine langsam sich entwickelnde, bei Waschen mit Ringer-Lösung vollständig reversible Verengerung der mittleren Gefäßweite. Eine Verdünnung des Extraktes 1 : 4 entsprach dabei einer Wirkung von 1 : 8000000 Adrenalin.

Zusammenfassung.

Es wurden an verschiedenen physiologischen Objekten die Wirkungen von wässerigen, mit Alkohol gefällten Extrakten aus Schilddrüsen und Ovarien vom Rind, und ihrer durch Ätherausschüttlung getrennten ätherischen und wässerigen Fraktionen geprüft und versucht, die chemische Natur der wirksamen Substanzen festzustellen.

1. Am isolierten Uterus von Meerschweinchen und Ratten besitzen die Gesamtextrakte beider Organe eine tonussteigernde, contractionserregende Wirkung.

Die ätherischen Fraktionen wirken ebenso.

Die wässerigen Fraktionen zeigen eine andersartige Wirkung, und zwar besonders ausgesprochen beim Rattenuterus: es tritt hier, gerade entgegengesetzt der Wirkung der Gesamtextrakte und ihrer ätherischen Fraktionen, eine Tonusherabsetzung und Contractionshemmung ein.

2. Es konnte gezeigt werden, daß die physiologische Wirksamkeit der ätherischen Fraktionen ausschließlich auf ihrem Gehalt an Fettsäuren bzw. deren Seifen

beruht. Diese Wirkung auf Organe kann als analoger Effekt aufgefaßt werden zu der bekannten, ebenfalls auf Fettsäuren zurückzuführenden cytolytischen Wirkung der Organextrakte auf isolierte Zellen.

Die wirksamen Substanzen der wässerigen Fraktionen sind sicher keine Seifen; auch gehören sie nicht zu den Substanzen der Cholingruppe; vielleicht sind sie zu den proteinogenen Aminen zu rechnen.

3. Auf Blutdruck und Atmung geht die Wirkung der Extrakte bei Katzen und Kaninchen auseinander. Die Gesamtextrakte sind bei beiden Tieren in hohen Dosen ohne Wirkung. Bei Katzen sind auch die ätherischen Fraktionen ungiftig. Die wässerigen Fraktionen machen eine rasch vorübergehende, in ihrer Intensität von der Einlaufgeschwindigkeit weitgehend abhängige Blutdrucksenkung. An Kaninchen führen die ätherischen Fraktionen — im Gegensatz zu den Katzen — schon in geringen Mengen den Tod der Tiere durch Atemstillstand herbei. Eine Wirkung der wässerigen Fraktionen, insbesondere eine Blutdrucksenkung wie bei Katzen, ist bei Kaninchen nicht zu beobachten.

Die Gefäße des durchströmten Kaninchenohrs erfahren durch die wässerigen Fraktionen eine reversible Verengerung.

Am ausgeschnittenen Arterienstreifen vom Rind machen die Gesamtextrakte Contraction.

4. Die Extrakte der Schilddrüsen und der Ovarien verhielten sich in ihren Wirkungen im ganzen Verlauf unserer Untersuchungen vollkommen übereinstimmend. Eine organspezifische Wirkung war nicht aufzufinden. Es scheinen also auch nach unseren Untersuchungen die physiologischen Wirkungen der Organextrakte zu den Funktionen der Organe im Leben in keiner Beziehung zu stehen. Vielmehr scheint uns die Anschauung möglich, daß die wirksamen Substanzen der Extrakte erst durch den Gang der Extraktbereitung ihre Aktivität erlangen.

Einige orientierende Versuche über die Behandlung der Samen mit Giften zum Zwecke der Desinfektion.

Von

Th. Bokorny.

(Eingegangen am 18. März 1914.)

Der Wunsch, die Sämereien von anhängenden lebenden Pilzen und sonstigen Mikroorganismen zu befreien, hat dazu geführt, dieselben vor der Aussaat mit Giftlösungen zu behandeln.

Das hat neben der nützlichen auch eine gefährliche Seite, indem durch die Giftlösung eine tödliche oder schädliche Wirkung auf die Samen geäußert werden kann.

Verfasser hat vor kurzer Zeit einige Beobachtungen über die Einwirkung von Giftlösungen auf die Keimung der Samen mitgeteilt (B., Einfluß verschiedener Substanzen auf die Keimung der Pflanzensamen, diese Zeitschr. 1913), die hier zum Vergleiche herangezogen werden sollen.

Die Versuche wurden so angestellt, daß die Samen in der Giftlösung eingequellt wurden und dauernd der Einwirkung derselben während des Keimungsprozesses ausgesetzt waren.

Dadurch wurde die schädliche Wirkung bei verschiedenen Verdünnungen des Giftes aufgeklärt, die nicht sicher zum Vorschein kommen, wenn das Gift nur während kurzer Zeit einwirkt.

Denn in diesem Falle ist immer die Möglichkeit gegeben, ja es ist praktisch sogar erwünscht, daß die Giftlösung nicht durch die Samenhülle hindurchdringt.

Es interessierte mich nun zu sehen, bis zu welchem Grade die Samen vor der Aussaat gefahrlos mit Giften behandelt werden können; Zeit, Konzentration und Temperatur, ferner das Alter der Samen müssen dabei berücksichtigt werden.

Die früher von Mannheim gehegte Hoffnung, daß man alte, wenig keimlustige Samen damit stimulieren könne, teile

ich zwar nicht, doch ist nach meinen früheren Versuchen über Keimlinge nicht unwahrscheinlich, daß gewisse Konzentrationen der Gifte die Keimung wie überhaupt das Wachstum fördern.

Kupfervitriol. Das Kupfervitriol ist für Keimpflanzen außerordentlich schädlich.

Gerstenkörner bleiben in der Entwicklung noch zurück, wenn in dem Keimwasser nur 0,0001 % Kupfervitriol ist.

0,1 % Kupfervitriol scheint in jedem Falle das Auskeimen der Samen zu hindern.

Das ist aber so zu verstehen, daß die Kupfervitriollösung während des Keimungsvorganges beständig auf den Keimling einwirkt.

Unter diesen Umständen ist jene Giftigkeit nicht zu verwundern.

Denn auch andere Pflanzen werden noch von hoch verdünnten Kupfervitriollösungen geschädigt.

Anders könnte es bei folgender Versuchsanstellung sein.

Verschiedene Samen[1]) wurden 40 Stunden in 0,5 % Kupfervitriol bei 15° eingeweicht. Nach 40 Stunden wurden sie herausgenommen und nach dem Abwaschen des Kupfervitriols (bei einigen war Kupfer in der Schale gebunden, wie die blaue Farbe derselben lehrte) in reinem Wasser in Keimschalen zur Keimung ausgelegt. Nach 24 Stunden war keine Keimung zu bemerken. Nach 48 Stunden war nur bei einigen Kressensamen die Keimung (bis zu $^1/_2$ cm Wurzellänge) vorgeschritten. Linsen, Gerste, Bohnen, Gemüsekohl waren ungekeimt.

Zum Vergleich wurden Samen derselben Art gleichzeitig ohne vorausgehende Gifteinwirkung keimen gelassen (Kontrollversuch).

Linsen hatten nach 3 Tagen in reinem Wasser bis 1,5 cm Wurzellänge und $^1/_2$ cm Stengellänge.

Weiße Bohnen zeigten nach 3 Tagen in reinem Wasser $^1/_2$ cm Wurzellänge.

Kressensamen nach 3 Tagen in reinem Wasser bis $2^1/_2$ cm Wurzellänge.

Gerste wies in reinem Wasser nach 3 Tagen bis 2 cm Wurzellänge auf.

---

[1]) Die Samen waren 2 Jahre alt.

Gemüsekohl in reinem Wasser nach 3 Tagen bis $^1/_2$ cm Wurzellänge.

Nach 4 Tagen waren natürlich sämtliche Keimlinge entsprechend weiter vorgeschritten. Die weitaus meisten Samen waren ausgekeimt. Nur beim Gemüsekohl fanden sich noch eine Anzahl ungekeimter Samen vor; doch öffneten sich die Schalen bereits.

Es ist somit erwiesen, daß 40stündiger Aufenthalt der Samen von Gerste, Linsen, Bohnen, Gemüsekohl in 0,5 $^0/_0$ Kupfervitriol schädlich wirkt. Nur bei Kressensamen tritt noch Keimung ein.

Dieselben Versuche wurden nun mit 0,5 $^0/_0$ Kupfervitriol bei nur 4stündiger Einquellung gemacht (bei Gerste und Linsen).

Die Samen wurden nachher in reinem Wasser keimen gelassen.

Bei Gerste trat die Keimung ein, freilich langsamer. Die Wurzel war nach 4 Tagen nur $^1/_2$ bis 1 cm lang. Die Keimung schritt aber dann weiter fort.

Bei Linsen aber war nach 4 Tagen noch keine deutliche Keimungserscheinung eingetreten.

Also bewirkt 4stündige Einquellung in 0,5 $^0/_0$ Kupfervitriol eine Behinderung des Keimungsprozesses.

Bei nur 1stündiger Einquellung der Gerste in 0,5 $^0/_0$iger Kupfervitriollösung tritt die Keimung natürlich ebenfalls ein. Die Wurzel ist nach 4 Tagen 0,5 cm lang, während beim Kontrollversuche schon nach 3 Tagen die Wurzel bis 2 cm lang wird.

Also ist doch eine Behinderung der Keimung sogar bei dieser kurzen nur 1stündigen Einwirkungsdauer zu bemerken.

Man kann also sagen, daß Kupfervitriollösung von 0,5 $^0/_0$ bis zu einer nur 1stündigen Einwirkungsdauer herab dem Samen noch schadet.

Ich stieg nun noch weiter herab, nämlich bis zu 0,1 $^0/_0$ Kupfervitriol.

In diese Lösung verbrachte ich verschiedene Samen (Gerste, Linsen wie oben), so daß auf etwa 2 g 200 ccm der 0,1 $^0/_0$igen Kupfervitriollösung trafen.

Die Gesamtmenge der Lösung ist hier deswegen nicht gleichgültig, weil bei solcher Verdünnung (0,1 $^{0}/_{0}$) leicht eine Täuschung durch zu wenig Gift entstehen kann. Es kann die schädliche Wirkung bei einem Teile der Samen ausbleiben, trotzdem die Lösung eigentlich schädlich ist; nämlich weil die absolute Quantität Gift nicht ausreicht, um sämtliche Samen zu vergiften.

Die Lösung wurde 48 Stunden lang einwirken gelassen.

Dann wurden die Samen herausgenommen und gut gewaschen.

Bei einigen hatte sich allerdings das Gift schon in der Schale festgesetzt, so daß eine blaugrüne Färbung eingetreten und das Auswaschen nicht mehr möglich war.

Die in Keimschalen ausgelegten, nur mit reinem Wasser in Berührung befindlichen Samen ergaben nun folgendes Resultat:

Nach 3 Tagen war bei den meisten Kohlsamen, Kressensamen, ferner bei Gerste die Keimung eingetreten; weiße Bohnen zeigten noch selten beginnende Keimung. Erbsen und Linsen noch gar nicht. Die Schalen der weißen Bohnen und Erbsen zeigten teilweise blaugrünliche Farbe.

Die Wurzeln der Gerstenkeimlinge entwickelten sich weiterhin recht kümmerlich.

Also war doch eine Schädigung eingetreten.

Erbsen und Linsen keimten auch im weiteren Verlaufe des Versuches nicht. Die Samen fielen den Schimmelpilzen anheim.

Die Bohnen zeigten in den folgenden Tagen eine kümmerliche Entwicklung der Wurzeln.

Auch beim Kohl hatten die Wurzeln Schaden gelitten, wie aus deren Entwicklung zu erkennen war.

Die Wurzeln der Kressenkeimlinge entwickelten sich nur schwach weiter.

Alles in allem genommen kann man sagen, daß 0,1 $^{0}/_{0}$ Kupfervitriol bei 48stündiger Einwirkung die Keimkraft der Samen schwächt, namentlich die Wurzelentwicklung schädigt und manche Samen völlig keimunfähig macht.

Es ist also bei längerer Einwirkung selbst sehr verdünnter Kupfervitriollösung auf Samen stets eine Schädigung zu befürchten.

Die länger dauernde Anwendung von kalter Kupfervitriollösung auf Samen vor der Keimung empfiehlt sich also nicht.

Da 0,1 % Kupfervitriol nach Erfahrungen des Verfassers manche Pilze bei gewöhnlicher Temperatur nicht tötet, ja nicht einmal ihr Wachstum beträchtlich hindert, und sogar 0,25 % z. B. Schimmel nicht tötet, sondern nur im Wachstum beträchtlich stört, wenn gewöhnliche Temperatur herrscht, so machte ich bei 0,1 % und auch bei 0,5 bis 1,0 % außer den Versuchen bei gewöhnlicher Temperatur noch einige Versuche mit heißen Lösungen unter kurzer Einwirkung.

Bei 0,5 %iger Lösung von 60° genügte schon ein 1/4 stündiger Aufenthalt der Samen, um empfindlichen Schaden anzurichten.

Gerste zeigte nach 1/4 stündigem Aufenthalt in 0,5 % Kupfervitriol von 60° und gutem Abwaschen mit Wasser noch Keimungsfähigkeit. Die Keimung schritt aber nicht weit voran.

Linsen erwiesen sich bei gleicher Behandlung als keimungsunfähig.

Ebenso weiße Bohnen, wenigstens binnen 4 Tagen. Später trat eine Wurzelstreckung ein, aber keine Stengelentfaltung.

Kohl zeigte bei gleicher Behandlung weder sofort noch später Keimung.

Kressen sind noch keimfähig, die Keimung kommt also bald zum Stillstand.

Versuche mit 0,1 % Kupfervitriol von gewöhnlicher Temperatur ergaben, daß ein 2 tägiger Aufenthalt der Samen in dieser Lösung bei Gerste, Bohnen, Kohl, Kresse schädlich wirkt (namentlich auf die Wurzeln), bei Linsen Keimunfähigkeit bewirkt.

Somit kann als sicher gelten, daß ein längerer Aufenthalt der Samen in Kupfervitriollösungen, selbst recht verdünnten, schon bei gewöhnlicher Temperatur und noch mehr bei höherer Temperatur dieselben schädigt.

Auf diesem Wege ist also nichts zu erreichen, zumal auch die Sporen der Pilze durch kalte Kupfervitriollösungen nicht sicher getötet werden, wenn nicht sehr hohe Konzentrationen gebraucht werden.

Ich wandte mich darum zu ganz kurzen Einwirkungen, welche siedendheiße Kupfervitriollösungen an Samen hervorbringen.

Das Samenmaterial war das gleiche wie vorhin.

Zunächst wurde 0,1 %ige Kupfervitriollösung siedendheiß auf die Samen einwirken gelassen, und zwar 1/2 Minute lang.

Die Samen wurden dabei in der heißen Lösung herumgerührt.

Die Menge der Kupfervitriollösung ist so hoch gewählt, daß die Abkühlung durch die herumgerührten Samen keine erhebliche war.

Die so behandelten, dann gut gewaschenen Samen zeigten normales Keimungsvermögen. Gerste, Linsen, weiße Bohnen verhielten sich so.

Dabei trat an keinem der vorhandenen Samen, auch nicht an den ungekeimten, bei 6tägigem Stehen im geheizten Zimmer irgendeine Pilzbildung auf.

Also scheinen die sämtlichen vorhandenen Pilzsporen getötet worden zu sein.

Ebenso wurde dann auf eine neue Portion Samen 2 %ige Kupfervitriollösung von Siedehitze 1/2 Minute lang einwirken gelassen.

Gerste zeigte dann teils normale Keimung, teils verzögerte (nach 6 Tagen).

Keine Pilze auf der Gerste.

Linsen verhielten sich ebenso.

Die weißen Bohnen wiesen normale Keimung auf. Keine Pilze.

Kohlsamen waren teils normal gekeimt, teils zurückgeblieben, teilweise aber auch ungekeimt (nach 6 Tagen). Keine Pilze.

Demnach scheint siedende 2 %ige Kupfervitriollösung, wenn sie 1/2 Minute lang auf Samen einwirken gelassen wird, doch meist den Samen etwas Schaden zu tun. Die Pilze werden getötet.

Der gleiche Versuch mit siedendheißer 5 %iger Kupfervitriollösung, die 1/2 Minute lang einwirkte, ergab, daß die Gerste langsam keimte. Nach 6 Tagen war die Keimung noch nicht weit vorgeschritten.

Linsen waren nach 6 Tagen noch wenig gekeimt.

Erbsen aber zeigten kräftige normale Keimung.

Ebenso zeigten weiße Bohnen fast normale Keimung.

Pilze waren nirgends gewachsen, auch nicht an den ungekeimten Samen.

Der Erfolg dieser Behandlung war also bei Erbsen und weißen Bohnen gut, bei Gerste und Linsen ungünstig insofern, als die Keimung mißglückte, während die Pilze ausblieben.

Endlich wurde ein Versuch mit siedendheißer 10%iger Kupfervitriollösung bei 1/2 Minute währender Einwirkung auf die Samen gemacht.

Auch hier zeigte sich teilweise ungünstige Einwirkung auf die Keimung, während freilich die Pilze unterdrückt wurden.

Bei Gerste waren von sechs Samen drei gekeimt, doch waren sie in der Entwicklung gegen den Kontrollversuch zurückgeblieben; die Wurzelbildung war besonders benachteiligt.

Linsen keimten zur Hälfte (von zehn fünf). Doch blieben sie in der Entwicklung zurück.

Weiße Bohnen zeigten kaum eine Schädigung.

Kohl keimte langsam.

Wirklich brauchbar für den Zweck, die Samen gefahrlos von Pilzen zu befreien, scheint also bei Gerste, Linsen, weißen Bohnen ein 30 Sekunden langes Behandeln mit siedendheißer 0,1%iger Kupfervitriollösung zu sein.

Stärkere Lösungen richten unter denselben Bedingungen meistens Schaden an, auch wenn die Einwirkung nur 1/2 Minute währt.

Nun wandte ich mich dem Kaliumpermanganat zu, einem Stoff, der durch organische Substanzen meist sehr leicht absorbiert und dabei reduziert wird.

Hefe wird durch denselben sehr rasch braun gefärbt (durch Braunsteinbildung).

Ich hoffte also, daß die anhängenden Pilzkeime durch die Kaliumpermanganatlösung, zumal dieselbe heiß angewandt wurde, sogleich oxydiert und damit getötet würden.

Die Samen selbst wurden durch die nur 1/2 Minute währende Einwirkung der Kaliumpermanganatlösung nicht gefärbt.

Faktisch blieb bei allen Versuchen die Pilzentwicklung aus.

Bei sämtlichen Versuchen wurden die Samen zuerst $^1/_2$ Minute lang in kochendheißer Permanganatlösung herumgerührt, dann davon befreit und mit heißem sterilem Wasser wiederholt nachgespült, hierauf mit sterilem Wasser in die Keimschale gegeben.

Nach 6 Tagen war Gerste zum Teil gekeimt, aber gegen den Kontrollversuch zurückgeblieben.

Linsen waren nach 6 Tagen teils normal, teils zurückgeblieben.

Die Kohlsamen waren nach 6 Tagen sämtlich ungekeimt.

Kressen keimten sämtlich aus, viele blieben aber gegen den Kontrollversuch zurück.

Somit eignet sich 0,1 $^0/_0$ Permanganat nur in beschränktem Maße zu dem bezeichneten Zwecke.

Auch mit Soda machte ich keine durchaus günstigen Erfahrungen.

Diese Substanz wurde in 1 $^0/_0$iger Lösung angewandt, da von vornherein keine so kräftige Wirkung zu erwarten war wie bei Kaliumpermanganat.

Nach $^1/_2$ Minute langer Einwirkung kochendheißer 1 $^0/_0$iger Sodalösung und Auswaschen mit sterilem heißem Wasser waren die Gerstenkörner wie auch die anderen Samen wenigstens zum Teil noch keimfähig.

Die Gerstensamen zeigten nach 6 Tagen meist normale Keimung. Pilze waren nirgends darauf gewachsen, während die ungekeimten (schlechten) Körner des Kontrollversuches immer binnen wenigen Tagen Verpilzung aufwiesen.

Linsen zeigten ebenfalls meist normale Keimung. Keine Pilze.

Kohl schien gelitten zu haben. Nach 6 Tagen waren nur einige Samen gekeimt, diese aber zurückgeblieben.

Kressen waren nach 6 Tagen sämtlich normal gekeimt.

1 $^0/_0$ige kochende Sodalösung dürfte sich bei ganz kurzer ($^1/_2$ Minute währender) Einwirkung wohl zur Vorbehandlung des Keimgutes behufs Sterilisierung eignen.

Essigsäure, eine nicht starke organische Säure, die überall zu Gebote steht, schien mir auch noch prüfenswert zu sein.

Die Prüfung wurde ebenso wie vorhin bei Soda, hier mit

1 %iger kochendheißer Essigsäurelösung durchgeführt. Behandlungszeit auch wieder ½ Minute.

Nach 6 Tagen zeigten dann die Gerstenkörner normale Keimung (d. h. sie waren mit den Kontrollkeimlingen gleich). Pilzbildung war nicht zu sehen.

Auch Linsen waren nach 6 Tagen meist normal gekeimt; nirgends war Pilzbildung wahrzunehmen.

Kohlsamen waren etwas zurückgeblieben. Keine Pilze.

Kresse war normal gewachsen. Keine Pilze.

1 %ige heiße Essigsäure eignet sich also zu dem bezeichneten Zwecke.

Da bei Anwendung heißer Giftlösungen sich Pilze und Giftwirkung verbinden und damit intensivere Einwirkungen ausüben als jedes für sich allein, so schien es mir noch von Interesse zu sein, die Wirkung von kochendheißem Wasser allein (ohne Gift) zu probieren.

Wie die Gifte ohne Hitze wirken, ist ja an einigen Beispielen schon gezeigt worden.

Dieselben Samen, die bei den vorausgehenden Versuchen zur Anwendung kamen, wurden auch hier wiederum angewendet.

Sie wurden in einer vorgewärmten Schale mit kochendheißem Wasser übergossen und 2 Minuten lang darin herumgerührt. Das Wasser betrug ungefähr die 10fache Menge der Samen.

Die Samen wurden dann in sterilen Keimschalen zur Keimung ausgelegt (mit sterilem Wasser).

Nach 10 Tagen wurde das Keimresultat festgestellt.

Gerste war durchaus ungekeimt.

Linsen waren meist gekeimt, aber zurückgeblieben.

Kohl war durchaus ohne Keimung.

Die Kressensamen waren sämtlich ungekeimt.

Man sieht, daß die Kochhitze, wenn sie 2 Minuten auf die Samen einwirkt, bis auf den Keimling durchdringt und denselben tötet oder doch schädigt.

Da hier gar keine chemische Substanz zur Einwirkung kam, so ist die schädliche Wirkung ganz auf Rechnung des heißen Wassers zu setzen.

Die Temperatur 100° scheint sich bei Anwendung kochendheißen Wassers rasch von der Oberfläche der Samen nach den

inneren Teilen derselben, speziell nach dem Keimling fortzupflanzen und damit die Zellen abzutöten.

Vorsicht ist also bei Anwendung heißer Lösungen geboten.

Die Einwirkung sei also stets sehr kurz bemessen, sonst ist Schädigung zu gewärtigen.

Nun versuchte ich noch Weingeist auf seine Anwendbarkeit zur Desinfektion von Samen.

Der Weingeist ist bekannt dadurch, daß derselbe die Oberflächen rasch benetzt, indem er die anhängende Luft sofort aufsaugt.

Zugleich ist er ein wirksames Antisepticum, wenn er in genügender Konzentration angewendet wird.

Ich versprach mir also von der Anwendung des Alkohols ein günstiges Resultat für den Fall, daß derselbe konzentriert und kurze Zeit einwirken gelassen wurde.

Eine längere Einwirkung konzentrierten Alkohols müßte ja die Samen schädigen.

Alkohol von 96%₀ wurde in großem Überschuß (etwa 50 ccm) auf ca. 50 Stück Samen einwirken gelassen. Nach 1 Minute wurden die Samen mit sterilem Wasser gewaschen und in eine sterile Keimschale gebracht (mit sterilem Wasser).

Nach 4 Tagen waren alle Gerstenkörner normal gekeimt.

Desgleichen sämtliche Linsen.

Kohlsamen waren zum Teil normal gekeimt, zum Teil zurückgeblieben.

Kressen waren nach 4 Tagen sämtlich normal gekeimt.

Also hatte der 96%ige Alkohol binnen 1 Minute nicht geschadet.

Pilzentwicklung war nirgends zu bemerken.

Somit wäre 96%iger kalter Alkohol zur Erreichung einer Samendesinfektion brauchbar.

Derselbe Versuch wurde nun auch mit kochendheißem Alkohol bei nur ½ Minute währender Einwirkung auf die Samen gemacht.

Es ergab sich nach 6 Tagen, daß Gerste normal keimte, ebenso Linsen, ferner weiße Bohnen, Kresse; Kohl war zum Teil normal gekeimt, einige Kohlsamen waren zurückgeblieben oder gar nicht gekeimt.

Also ist auch kochendheißer 96 %iger Alkohol geeignet zur Erreichung des bezeichneten Zweckes, wenn er nur ½ Minute lang einwirken gelassen wird.

Die Rücksichtnahme auf gute und rasche Benetzung der Pilzsporen durch Alkohol veranlaßte mich, den Alkohol nun noch einigen anderen Pilzgiften beizumischen.

Es wurde zunächst eine alkoholische Kalilauge hergestellt, die aus 50 ccm 30 %iger Kalilauge und 50 ccm 96 %igen Alkohols bestand.

Diese Lösung wurde bei gewöhnlicher Temperatur 1 Minute lang auf die Samen unter beständigem Umrühren einwirken gelassen.

Die darauffolgende Keimung der mit sterilem Wasser gewaschenen Samen in der sterilen Keimschale ergab, daß die Keimkraft bei allen Samen (Gerste, Linsen, weiße Bohnen, Kohl, Kressen) ungeschwächt war; ja sogar ein besseres Wachstum als beim Kontrollversuch stellte sich ein.

Pilzwachstum war nirgends zu bemerken.

Also eignet sich die genannte Lösung, wenn sie 1 Minute bei gewöhnlicher Temperatur auf die Samen einwirkt, zur Samendesinfektion.

Alkoholische Formaldehydlösung: 50 ccm Formaldehyd von 25 bis 30 % CH_2O-Gehalt wurden mit 50 ccm Alkohol von 96 % vermischt.

In dieser Mischung wurden ca. 100 Samen 1 Minute lang bei gewöhnlicher Temperatur unter beständigem Umrühren belassen.

Nach dem Waschen wurden sie dann in sterilen Schalen keimen gelassen.

Gerste hatte nach 6 Tagen noch nicht gekeimt; von Linsen zeigte nur 1 Same normale Keimung, die andern waren entweder zurück oder ungekeimt. Vom Kohl waren nur wenige ausgekeimt. Nur die Kressen wiesen meist normale Keimung auf.

Pilze waren nirgends zu bemerken.

Alkoholischer Formaldehyd scheint sich weniger zu dem bezeichneten Zwecke zu eignen.

Alkoholische Carbollösung: 10 g Phenol wurden in 90 ccm Alkohol von 96 % aufgelöst.

Mit dieser Lösung wurden die Samen kalt 1 Minute lang behandelt.

Nach gründlicher Reinigung mit sterilem Wasser in die sterile Keimschale gebracht, keimten die Gerstenkörner binnen 6 Tagen gar nicht.

Die Linsen keimten entweder gar nicht oder blieben stark zurück usw.

Der Keimungsvorgang war also erheblich beeinträchtigt.

Nirgends waren Pilze gewachsen.

Wegen Schädigung der Keimpflanzen ist diese Methode nicht zu gebrauchen.

Alkoholischer starker Essig: 50 ccm Eisessig wurden mit 50 ccm Alkohol von 96 $^0/_0$ gemischt; diese Lösung kalt auf die Samen $^1/_2$ Minute lang einwirken gelassen, dann ausgewaschen usw.

Nach 7 Tagen waren von den Gerstenkörnern nur der vierte Teil gekeimt.

Bei Linsen waren alle Samen ungekeimt, ebenso bei Kohl.

Von Kresse waren nach 7 Tagen alle Samen gekeimt, aber gegen den Kontrollversuch zurückgeblieben.

Eisessig ohne jeden Zusatz: 100 $^0/_0$ige Essigsäure wirkte in der Kälte $^1/_2$ Minute lang auf die Samen ein.

Nach 7 Tagen waren bei Gerste alle Samen ungekeimt geblieben, Schimmel war auf denselben gewachsen.

Auch bei anderen Samen war ungünstiger Keimungsausfall zu bemerken.

Methode also ungeeignet.

Alkoholische Salzsäure: 50 ccm rohe Salzsäure wurden mit 50 ccm Alkohol von 96 $^0/_0$ gemischt und $^1/_2$ Minute lang bei gewöhnlicher Temperatur auf die Samen einwirken gelassen.

Es trat dann binnen 6 Tagen überall normale Keimung ein.

Pilze wuchsen nirgends.

Die Lösung eignet sich also.

Wässerige Kupfervitriollösung von 10 $^0/_0$: Nach 5 Minuten langer Einwirkung bei gewöhnlicher Temperatur auf die Samen war die Desinfektion nicht gelungen (es wuchs Schimmel); auch der Keimungsvorgang gelang nicht recht (näheres siehe Tabelle).

Methode also nicht geeignet.

Tabellarische Zusammenstellung einiger Resultate.

Substanz	Gerste	Linsen	Weiße Bohnen	Kohl	Kresse	Bemerkungen
Kupfervitriol 0,5%, zum Reinigen der Samen von anhängenden Pilzen verwendet, teils kalt, teils heiß. Samen nachher gut gewaschen.	Nach 40stündiger Einquellung in 0,5%iger Lösung findet in reinem Wasser keine Keimung statt. Bei nur 4stündiger Einquellung in 0,5%iger Kupferlösung tritt Keimung (in reinem Wasser) ein; Wurzel binnen 4 Tagen 1/4 bis 1 cm lang; die Keimung geht auch weiter. Bei nur 1stündiger Einquellung findet Keimung statt; Wurzel nach 4 Tagen 0,05 cm. Nach 1/4 Stunde in 0,5% Cu-Vitriol von 60° tritt binnen 4 Tagen in reinem Wasser Keimung ein, aber kurz.	Nach 40stündiger Einquellung ist keine Keimfähigkeit mehr vorhanden. Bei nur 4stündiger Einquellung in 0,5%iger Kupferlösung trat (in rein. Wasser) binnen 4 Tagen keine deutliche Keimungserscheinung ein. Bei nur 1stündiger Einquellung tritt Keimung ein, Wurzel nach 4 Tagen 1/2 cm, Stengel 1/3 cm. Bei 1/4stündiger Quellung in 0,5% $CuSO_4$ von 60° keine Keimung.	Nach 40stünd. Einquellung keine Keimfähigkeit mehr. Die Samenschale hatte Kupfer in sich niedergeschlagen und zeigte blaugrüne Farbe. Nach 1/2stünd. Liegen in 0,5% Cu-Vitriol von 60° binnen 4 Tagen in reinem Wasser keine Keimung; erst später kommt eine Wurzelstreckung zustande, aber keine Stengelentfaltung.	Nach 40stünd. Einquellung u. darauffolgendem Abwaschen des Giftes findet in reinem Wasser keine Keimung statt. Nach 1/4stünd. Liegen in 0,5% Cu-Vitriol von 60° binnen 4 Tagen in reinem Wasser keine Keimung; auch später nicht.	Nach 40stünd. Einquellung findet noch Auskeimung i. reinem Wasser statt. Die Keimwurzel wird aber nicht länger als 1/2 bis 3/4 cm, dann hört d. Wachstum auf. Nach 1/4stünd. Liegen in 0,5% Cu-Vitriol von 60° tritt binnen 4 Tagen in reinem Wasser Keimung ein, die aber bald zum Stillstand kommt.	0,1% Cu-Vitriol tötet den Keimling, wenn das Gift während des Keimungsvorganges beständig anwesend ist. 0,05% läßt die Wurzel auskeimen (bei Erbsen), tötet sie dann ab. 0,01% verzögert das Wachstum der Wurzel (bei Erbsen um die Hälfte) usw. Sogar bei 0,0001% tritt bei Erbsen noch etwas Verzögerung ein. (B. in Biochem. Zeitschr., 1913.)
Kupfervitriol 0,1%, bei gewöhnlicher Temperatur angewandt auf die Samen.	Nach 2tägiger Behandlung noch keimfähig. Die Wurzeln entwickeln sich aber weiterhin sehr kümmerlich.	Nach 2tägiger Behandlung keine einzige Linse mehr keimfähig. Die Linsen fallen den Schimmelpilzen anheim.	Nach 2tägiger Behandlung noch keimfähig, freilich nicht alle. Die Wurzel der gekeimten verkümmert dann.	Nach 2tägiger Einwirkung noch keimfähig; aber nicht alle. Die Wurzeln haben bei allen Schaden gelitten.	Nach 2tägiger Einwirkung noch keimfähig. Wurzel entwick. sich nur schwach weiter.	Nach 5 Tagen starker Schimmelgeruch in der Keimschale mit reinem Wasser (nach vorausgehender Behandlung mit Cu-Salz

Kupfervitriol 0,1%, kochendheiß angewendet (½ Min. lang).	Nach 6 Tagen Keimung normal; nirgends Pilze.	Nach 6 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.			Unschädlich für Samen. Pilze werden getötet.
Kupfervitriol 2%, kochendheiß angewendet (½ Min. lang).	Nach 6 tägigem Aufenthalt im geheizten Zimmer war die Keimung bei einigen normal, bei andern im Rückstand. Pilze waren nirgends aufgetreten.	Nach 6 Tagen Keimung bei einigen normal; andere Linsen waren in der Keimung zurückgeblieb. Nirgends waren Pilze bemerkbar.	Nach 6 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen teilweise normal gekeimt, teilweise zurück, teilweise ungekeimt. Keine Pilze.		Methode wenig geeignet.
Kupfervitriol 5%, kochendheiß angewendet (½ Min. lang).	Nach 6 Tagen Keimung noch nicht weit vorgeschritten. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen noch wenig gekeimt. Erbse aber in normaler Keimung. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen Keimung fast normal. Keine Pilze.			Methode wenig geeignet.
Kupfervitriol 10%, kochendheiß angewendet (½ Min. lang).	Nach 6 Tagen sind von sechs drei gekeimt, aber etwas langsam. Wurzel scheinbar geschädigt. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen sind von zehn fünf gekeimt, aber etwas zurück, später sich erholend. Nirgends Pilze.	Nach 6 Tagen von zwei Bohnen zwei fast normal gekeimt. Nirgends Pilze.	Von 12 Samen sind 3 nach 6 Tagen i. Beginn der Keimung. Nirgends Pilze.		Methode nicht tadellos[1]).
Übermangansaures Kali 0,1%, siedendheiß auf die Samen angewandt (½ Min. lang).	Nach 6 Tagen zeigten sich die Permanganatsamen in d. Keimschale mit reinem Wasser angesetzt, zum Teil gekeimt, zum Teil ungekeimt. Die gekeimten Samen waren etwas zurück, sonst gesund. Pilze waren an den Samen nirgends wahrzunehmen.	Nach 6 tägigem Aufenthalt der Permanganatsamen in der Keimschale (mit reinem Wasser) war ein beträchtlicher Teil derselben gekeimt; die Keimung teils normal, teils etwas verzögert. Pilze nirgends sichtbar.		Nach 6 Tagen sämtliche Permanganat-Kohlsamen in der Keimschale ungekeimt geblieb. Keine Pilze.	Sämtliche Permanganat-Kressen-Samen keimten in der Keimschale mit reinem ausgekochtem Wasser binnen 6 Tagen. Viele aber waren gegen den Kontrollversuch noch zurück. Keine Pilze.	Oft nachteilige Wirkung auf die Samen. Anhängende Pilze werden getötet.

[1]) Auch kalter 10%iger Kupfervitriol schadet bei 5 Minuten langer Einwirkung (siehe Schlußbemerkungen S. 88).

Substanz	Gerste	Linsen	Weiße Bohnen	Kohl	Kresse	Bemerkungen
Soda 1 %, siedendheiß auf die Samen gebracht (1/2 Min. lang).	Nach 6 Tagen zeigten die Sodakeimlinge in der Keimschale (mit reinem Wasser) meist normale Keimung. Keine Pilze. Nach 11 Tagen ebenso.	Die Sodakeimlinge wiesen in der Keimschale mit reinem Wasser meist normale Keimung auf. Keine Pilze. Nach 11 Tagen ebenso.	Meist normale Keimung. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen Samen nur zum Teil gekeimt. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen sämtliche Samen normal gekeimt. Keine Pilze. Nach 11 Tagen ebenso.	Meist keine nachteilige Wirkung auf d. Samen. Anhängende Pilze werden getötet. 1 %ige heiße Sodalösung eignet sich bei manchen Samen zur Sterilisierung (Einwirkungsdauer 1/2 Min.).
Essigsäure 1 %, als siedendheiße Lösung angewandt (1/2 Min. lang).	Nach 6 tägigem Aufenthalt in der mit reinem sterilen Wasser beschickten Keimschale waren sämtliche Essigsäuresamen normal gekeimt, in richtiger Größe und Entwicklung. Keine Pilze. Nach 10 Tagen ebenso.	Nach 6 Tagen Samen meist normal gekeimt u. gewachsen. Keine Pilze. Nach 10 Tagen ebenso.		Nach 6 Tagen bei einigen Keimung da, aber zurückgeblieben. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen sämtliche Keimlinge hervorgekommen und normal gewachs. Keine Pilze. Nach 10 Tagen ebenso.	Kochend heiße 1 %ige Essigsäure eignet sich (bei nur 1/2 Min. langer Einwirkung) zur Sterilisierung der meisten hier angeführten Samen.
Kochendheißes Wasser (bei 2 Min. langer Einwirkung).	Nach 10 Tagen waren die (zuvor 2 Min. gebrühten) Gerstenkörner sämtlich ungekeimt; also Keimlinge durch die kurze Einwirkung des kochendheißen Wassers abgestorben. Keine Pilze.	Nach 10 Tagen waren die gebrühten Linsen meist gekeimt, aber doch in der Keimung merklich zurück. Keine Pilze.		Nach 10 Tagen waren die gebrühten Kohlsamen sämtlich lich ungekeimt, die Keimlinge also durch das kurze Brühen abgestorben. Keine Pilze.	Nach 10 Tagen sämtliche Samen ungekeimt. Keine Pilze.	Der Zweck der Pilzunterdrückung wird durch das 2 Min. lange Brühen mit kochendheißem destilliertem Wasser erreicht. Da aber die Keimlinge absterben oder leiden, ist d. Methode nicht zu brauchen. 2 Min. Kochhitze ist zu viel.

Alkohol von 96 % (15°) 1 Min. lang einwirken gelassen.	Nach 4 Tagen waren alle Gerstenkörner, trotzdem sie 1 Min. in konzentr. Alkohol gelegen hatten, normal gekeimt. Pilze waren nirgends zur Entwicklung gekommen.	Nach 4 Tagen sämtliche Samen normal gekeimt. Keine Pilze.		Nach 4 Tagen einige Samen normal gekeimt, die anderen zurück oder noch ungekeimt. Keine Pilze.	Nach 4 Tagen alle Samen normal gekeimt. Keine Pilze.	Trotz dichten Einsäens der Samen in die Keimschale waren nach 4tägigem Stehen der Keimschale in geheiztem Zimmer keinerlei Pilze gewachsen. Die Samen schienen meist keinen Schaden genommen zu haben. Also würde sich diese Methode zum Desinfizieren von Samen (wenigstens im Laboratorium) eignen. Der Alkohol scheint nicht sehr rasch einzudringen.
Alkohol von 96 % (kochend angewandt) ½ Min. einwirken gelassen.	Nach 6 Tagen Aufenthalt in der sterilisierten Keimschale wiesen die Samen normale Keimung auf. Pilze waren nirgends sichtbar.	Nach 6 Tagen normale Keimung, wie wenn kein schädlicher Einfluß stattgefunden hat.	Nach 6 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen waren einige Samen normal gekeimt, die andern waren zurück oder noch ungekeimt. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen alle Samen normal gekeimt. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen waren nirgends Pilze gewachsen trotz dichter Einsaat der Samen in die Keimschale. Die Desinfektion schien gelungen. Die Keimung ging meist normal vor sich, so daß beide Zwecke erreicht zu sein schienen. Heißer Alkohol tötet die Sporen jedenfalls noch sicherer wie kalter. Methode im Laboratorium verwendbar.

Substanz	Gerste	Linsen	Weiße Bohnen	Kohl	Kresse	Bemerkungen
Alkoholische Kalilauge (kalt). 50 ccm Kalilauge von 30 % + 50 ccm Alkohol von 96 %. Einwirkungsdauer 1 Min.	Nach 4 Tagen Keimung normal, ja sogar besser als beim Kontrollvers. Nirgends Pilze.	Nach 4 Tagen sämtliche Samen normal gekeimt, ja besser als beim Kontrollversuch. Keine Pilze.	Nach 4 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.	Nach 4 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.	Nach 4 Tagen Keimung normal. Keine Pilze.	Die alkoholische Kalilauge schien mir besonders gut zu wirken. Sie förderte bei 1 Min. langer Einwirkung sogar den Keimungsvorgang. Pilze werden getötet.
Alkoholische Formaldehydlösung (kalt). 50 ccm Formaldehyd von 25 bis 30 % + 50 ccm Alkohol von 96 %. Einwirkungsdauer 1 Min.	Nach 6 Tagen Keimung nirgends eingetreten. Trotzdem waren keine Pilze aufgetreten.	Nach 6 Tagen manche gar nicht gekeimt, manche mit starker Verzögerung, nur einer normal. Keine Pilze.	Keimung meist nicht ohne Störung.	Nach 6 Tagen nur wenige Samen gekeimt.	Die Kressensamen wiesen nach 6 Tagen fast durchaus normale Keimung auf. Von allen geprüften Samen hatten diese allein nicht gelitten. Pilze waren nicht zu bemerken.	Die Desinfektion gelingt. Der Keimungsvorgang aber wird durch 1 Min. lange Einwirkung von nebenstehender alkoholischer Formaldehydlösung meist geschädigt.
Alkoholische Carbolsäurelösung (kalt). 10 g Phenol + 90 ccm Alkohol von 96 %. Einwirkungsdauer auf die Samen 1 Min.	Die Keimung war nach 6 Tagen Aufenthalt in der sterilen Keimschale nirgends eingetreten. Keimlinge offenbar getötet. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen die Linsen entweder gar nicht gekeimt oder in der Keimung zurück, selten normal. Keine Pilze.		Nach 6 Tagen nur wenige Samen gekeimt, diese zurück. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen Keimung meist normal. Keine Pilze.	Die alkoholische Carbollösung wirkt schon bei 1 Min. langer Einwirkung meist nachteilig oder sogar verhindernd auf den Keimungsvorgang ein. Pilze wachsen freilich auch nicht.
Essigsäure + Alkohol (kalt). 50 ccm Eisessig + 50 ccm Alkohol von 96 % wirkten $^1/_2$ Min. lang auf die Samen ein.	Nach 7 Tagen war nur ein Viertel der Samen gekeimt. Keine Pilze.	Nach 7 Tagen alle Samen ungekeimt. Keine Pilze.		Nach 7 Tagen alle Samen ungekeimt. Keine Pilze.	Nach 7 Tagen waren alle Samen gekeimt, aber gegen den Kontrollversuch zurückgeblieben. Keine Pilze.	Die alkoholische Essigsäure von der nebenan bezeichn. Zusammensetzung ist also für den Zweck der Samendesinfektion nicht zu empfehlen, da sie schon bei $^1/_2$ Min. langer Einwirk. die Samen schädigt.

Essigsäure (Eisessig) allein (kalt) wirkte $^1/_2$ Min. lang auf die Samen ein.	Nach 7 Tagen alle Samen ungekeimt. Auf den Samen war ein Schimmelpilz (Mucor) gewachsen.	Nur ein Drittel der Samen war gekeimt; die gekeimten wiesen ein starkes Zurückbleiben gegen den Kontrollversuch auf. Keine Pilze.		Nur der 10. Teil der Samen war nach 8 Tagen gekeimt. Keine Pilze.	Nach 7 Tagen waren 80 % der Samen gekeimt, die Keimlinge waren gegen den Kontrollversuch zurück. Keine Pilze.	Offenbar benetzt der der Eisessig ohne Alkohol die Samen bei nur $^1/_2$ Min. langer Einwirkung nicht genügend, um die anhängenden Sporen zu töten. Auch werden viele Samen geschädigt. Eisessig also unbrauchbar.
Salzsäure + Alkohol (kalt). 50 ccm rohe Salzsäure + 50 ccm Alkohol von 96 % wirkten $^1/_2$ Min. lang auf die Samen ein.	Nach 6 Tagen waren die Gerstenkörner gekeimt, und zwar normal. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen waren alle Linsen normal gekeimt. Keine Pilze.	Nach 6 Tagen alle Samen normal gekeimt. Keine Pilze.		Nach 6 Tagen alle Samen normal gekeimt. Keine Pilze.	Kalte alkololische Salzsäure von nebenstehender Zusammensetzung eignet sich also bei nur $^1/_2$ Min. langer Einwirkung zur Desinfektion der Samen.
Kupfervitriol von 10 % (kalt), 5 Min. lang einwirken gelassen.	Nach 6 Tagen war erst ein Drittel der Samen gekeimt, die andern befanden sich erst in den ersten Anfängen der Keimung oder zeigten noch keine Spur davon und waren dicht mit einem grünlichen Schimmel (Penicillium) versehen.	Nach 6 Tagen war nur die Hälfte der Samen gekeimt, die andern waren dicht verschimmelt.	Nach 6 Tagen die meisten verschimmelt.	Nach 6 Tagen nur die Hälfte der Samen im Anfang der Keimung befindlich. Die übrigen verschimmelt.	Nach 6 Tagen waren die meisten Samen gekeimt, aber noch weit in der Keimung zurück.	Kupfervitriol eignet sich also auch bei dieser Art der Anwendung nicht zur Desinfektion der Samen.

Schlußbemerkungen.

Von anhängenden Pilzkeimen das Saatgut zu befreien, ist nicht nur ein sehnlicher Wunsch der Landwirte, sondern auch aller mit Keimungsversuchen beschäftigten Physiologen.

Es handelt sich um Spaltpilze, Sporen von Krankheitserregern und gewöhnlichen Bakterien, Schimmelpilze, Rost, Brandpilze usw.

Die Resistenz der Pilze und ihrer Sporen ist eine verschiedene.

Es kommt darauf an, ein Mittel zu finden, wodurch die Pilze und ihre Sporen getötet werden, während die Samen ungeschädigt bleiben.

Das ist an sich keine unlösbare Aufgabe, da die Pilze meist nur oberflächlich anhängen.

Ob die Oberhaut der Samen mehr oder weniger durchlässig ist, kommt natürlich sehr in Betracht.

Nach A. T. Brown (Ann. Botany 1907) sind die Getreidekörner von einer leblosen, semipermeablen Membran umhüllt, die das Eindringen vieler Gifte verhindert.

Die Samenschale des Gersten- und Weizenkorns ist nach H. Schröder (Centralbl. f. Bakt., 15. Nov. 1910) schwer durchlässig für Kupfersulfat[1]), Fluornatrium, Chlorbarium; leicht durchlässig für Sublimat, Jod, Alkohol, Äther, Chloroform, Essigsäure.

Die ersteren dringen schwer ein, die letzteren gelangen ziemlich leicht in das Innere des Getreidekorns und kommen so mit den lebenden Zellen des Keimlings und seiner Umgebung in Berührung, wodurch dann eine Schädigung oder das Absterben erfolgt.

Welcher Unterschied z. B. zwischen Sublimat und Silbernitrat besteht, kann man daraus ersehen, daß Weizenkörner in 0,2 bis 0,7 %iger Lösung des Sublimats binnen 48 Stunden ihre Keimfähigkeit verlieren, während Silbernitrat selbst in 5 %iger Lösung 24 Stunden lang ohne erkennbare Schädigung ertragen wird; eine 2 %ige Lösung war sogar 66 Stunden lang wirkungslos.

[1]) Nach meinen obigen Versuchen trifft das nicht so ganz zu. Denn 0,5 % Kupfervitriol schädigt die Gerste usw. schon bei 1 stündiger Einwirkung etwas.

Entfernt man aber über dem Embryo Frucht- und Samenschale, was am trockenen Weizenkorn bei einiger Vorsicht ohne Verletzung des Keimlings möglich ist, so vernichtet 5 % ige Silbernitratlösung binnen 14 Stunden die Keimfähigkeit vollständig.

Ebenso werden durch die gleiche Behandlung unversehrte Erbsen, also Samen ohne eine in obigem Sinne selektiv per meable Hülle, getötet.

Freilich werden die pilzsporentötenden Gifte, auch wenn sie nicht durch die unverletzte Samenschale hindurch können, doch einen nachteiligen Einfluß auf die Keimfähigkeit des Saatgutes ausüben, indem bei manchen sonst keimfähigen Samen Risse, die in der Schale vorhanden sind, das Eindringen des Giftes ermöglichen; unter Umständen ist das ein ganz beträchtlicher Bruchteil der Samen.

Es fragt sich nun, wie widerstandsfähig die Pilzsporen gegen die anzuwendenden Gifte sind und ob vielleicht auch sie Schutzschichten gegen das Eindringen der Gifte haben.

Letzteres scheint nach verschiedenen Forschern der Fall zu sein.

Auch diese Schutzschichten lassen das Gift verschieden leicht oder schwer durch.

Bei Milzbrandsporen hat man z. B. gefunden, daß Sublimat weit schädlicher wirkt als Silbernitrat.

1,7 % Sublimat tötet Milzbrandsporen in 12 bis 14 Minuten, 0,42 % in 30 Minuten, 0,1 % in 80 Minuten.

4 % ige Silbernitratlösung tötet binnen 60 Minuten, 0,8 % ige noch nicht in 60 Minuten, 0,08 % ige nicht in $10^1/_2$ Minuten.

Kupfersalze sind in den genannten Zeiten ganz (? B.) wirkungslos. Sie gehen offenbar durch die Membranen der Pilzsporen wie durch die Schale der Weizenkörner schwer hindurch.

Diese Übereinstimmung mancher Pilzsporen mit den Samen erschwert natürlich die Befreiung der Samen von keimfähigen Sporen durch Behandlung der Samen mit Giften.

Bei Versuchen im Laboratorium wurde bis jetzt meist Sublimat verwendet.

Die Samen wurden in 2 % ige Lösung eben eingetaucht oder in 0,1 % iger 2 Minuten lang belassen oder $^1/_2$ Stunde lang damit behandelt usw.

In vielen Fällen ging der eigentlichen Sterilisation eine Vorbehandlung, z. B. mit Alkohol, voraus, um bessere Benetzung zu erreichen, oder eine gründliche mechanische Reinigung.

Die Erfolge werden zum Teil als günstig bezeichnet.

Czapek gibt an, daß nur ausnahmsweise Schimmelpilzsporen oder Spaltpilzkeime am Leben geblieben seien.

Godlewski und Polzeniuß scheinen aber nicht in allen Fällen zu dem erstrebten Ziele gelangt zu sein.

Mit alkoholischer Sublimatlösung von 0,1 % hatte Windisch bei Gerste Erfolg.

Alkohol wurde als ungenügend befunden, ebenso Formaldehyd (Schulze, Kehler usw.).

Schulze (Kochs Jahrbuch, Bd. 2, 1901) untersuchte eingehend die desinfizierende Kraft von Sublimat.

Er fand, daß dasselbe bei 0,1 bis 0,6 % in $1^{1}/_{2}$ bis 12 Minuten Gerste nicht zuverlässig zu sterilisieren vermag. Der Prozentsatz der Keimung ging dabei stark zurück.

Besonders widerstandsfähig schienen die Sporen der Schimmelpilze zu sein, weniger die der Sproßpilze und Bakterien.

Günstigere Resultate hatte Kehler (Kochs Jahrb., Bd. 15), der gleichfalls Sublimat in Dosen von 1 : 500 $^{1}/_{2}$ Stunde lang einwirken ließ und damit Weizen vollkommen sterilisierte, ohne die Keimung in nennenswertem Maße zu alterieren.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß Sublimat in manchen Fällen Dienste tut, nämlich dann, wenn nicht besonders widerstandsfähige Sporen in großer Zahl da sind. Oft aber wird die Keimfähigkeit der Samen dabei erheblich geschädigt.

Günstiger liegen die Dinge bei Silbernitrat, das aber wegen seines hohen Preises praktisch ausgeschlossen erscheint.

H. Schröder (Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, 16/19) hat die Samensterilisation mit Silbernitrat an Weizen und Gerste ausprobiert.

30 Weizenkörner wurden 14 Stunden lang mit 5 % Silbernitrat behandelt, dann nach ausgiebigem Waschen mit sterilem Wasser nach 24 Stunden in keimfreiem Wasser aufquellen gelassen.

Von 11 Körnern, die danach in der üblichen Weise auf Keimfähigkeit untersucht wurden, keimten 10, d. i. 90 %.

16 Körner wurden einzeln in Röhrchen mit Bouillon geworfen; nach 8 Tagen zeigte sich die Fleischbrühe klar.

11 Körner waren deutlich gekeimt, von den übrigen keimten 2, als die Bouillon abgegossen wurde.

Pilze traten in der Bouillon auch weiterhin nicht auf.

Bei einem Versuch mit Gerste dehnte der Verfasser die Einwirkung des Silbernitrats länger aus, nämlich auf 24 Stunden.

Die Samen wurden nach der Silbernitratbehandlung noch einigemal mit Kochsalzlösung gewaschen und schließlich 24 Stunden in schwach gesalzenem Wasser liegen gelassen (um das Silber auszufällen).

Es keimten dann noch etwa 70 % der Samen.

Die unbehandelte Gerste zeigte eine ähnliche Keimfähigkeit; es handelte sich also um ein schlecht und unregelmäßig keimendes Saatgut.

Versuche über den Erfolg dieser Sterilisation ergaben dann die Abwesenheit keimfähiger Pilze; die Keime waren also durch das Silbernitrat getötet worden, wenigstens alle diejenigen, die in den vom Verfasser angewendeten Nährlösungen (Fleischextraktbouillon, Traubenzuckerlösung) keimfähig sind.

Spelzen und Fruchtschalen werden natürlich durch das Silbernitrat geschwärzt. Das tut der Keimfähigkeit der Samen keinen Eintrag.

Freilich ertragen nur Körner mit unversehrter Samenschale die Behandlung mit Silbernitrat.

Man wird also Getreide mit möglichst geringem Gehalt an verletzten Körnern (durch Handdrusch erhalten) anwenden müssen.

Einstweilen ist das positive Resultat nur bei Gerste und Weizen erhalten.

Wahrscheinlich wird die Methode aber auf andere Getreidearten, wie Reis und Hafer, ebenfalls anwendbar sein.

Leguminosen sollen ausgeschlossen sein.

Die guten Erfolge mit Silbernitrat sind auf die Schwerdurchlässigkeit der Samenschale für Silbernitrat und auf die große keimtötenhe Kraft der Silberlösung zurückzuführen.

Am wichtigsten ist die erste Eigenschaft; denn Stoffe von stark keimtötender Kraft gibt es ja sonst auch noch, z. B. Sublimat.

Es ist aber unwahrscheinlich, daß dasselbe in solchem Maße von der Samenhaut gebunden wird wie das Silbersalz.

Allerdings ist eine Bindung auch bei Sublimat anzunehmen. Denn die lebenden Zellen binden mit ihrem Protoplasmainhalt das Quecksilbersalz bis zu einer gewissen Menge; auch Silbersalz wird von dem Protoplasma gebunden.

Bei Silbersalzen wirken aber noch andere Dinge mit.

Die Silbersalze werden durch viele organische Stoffe der Zelle, wie Gerbstoff, Zucker, reduziert und damit niedergeschlagen.

Die Silbermenge, die auf diesem Wege unlöslich gemacht wird, mag wohl bedeutend größer sein als die durch Plasmaeiweiß gebundene.

Bei Sublimat ist eine derartige Ausfällung nicht anzunehmen.

Hierauf beruht wohl die günstigere Wirkung des Silbernitrats.

Meine eigenen Beobachtungen erstreckten sich diesmal nur auf den Kupfervitriol unter den Metallen der Kupfergruppe.

Sie ergaben, daß z. B. durch kochendheiße 0,1 %ige Kupfervitriollösung bei nur $^1/_2$ Minute währender Einwirkung auf die Samen diese keinen Schaden leiden, während die Pilze getötet werden.

Sogar 2 % und 5 % Kupfervitriol läßt sich bei gleichem Verfahren mit Erfolg anwenden, wenn auch bei 5 % schon die schädliche Beeinflussung der Samen etwas hervortritt.

10 % Kupfervitriol erzeugt bei gleichem Verfahren meist eine Schädigung der Samen.

Die konzentrierteren Kupfervitriollösungen müßten entschieden kalt und nicht zu lange Zeit zur Anwendung gebracht werden, wenn der Zweck erreicht werden soll.

24 stündige Einwirkung, wie sie bei Versuchen früherer Forscher zur Anwendung gebracht wurde, dürfte wohl immer zu lang sein.

Sogar 0,1 %ige kalte Kupfervitriollösung dürfte bei 24 Stunden Einwirkung von Übel sein.

Schon 4 stündige Einquellung in 0,5 %iger Kupfervitriollösung schädigt Linsen.

Man müßte also wohl zurückgehen auf eine Behandlung von nur einigen Minuten oder nicht viel mehr.

Dabei würde aber die keimtötende Wirkung keine sehr sichere mehr sein, selbst wenn die Konzentration sehr hoch genommen wird.

Ein nachträglich (siehe tabellarische Zusammenfassung) angestellter Versuch, wobei 10°/₀ige Kupfervitriollösung auf Samen 5 Minuten lang einwirken gelassen wurde, ergab, daß diese Lösung bei 5 Minuten langer Einwirkung auf die Samen die Keimkraft schädigt, während andererseits die Desinfektion nicht gelingt.

Es wächst nachher Schimmel auf den Samen.

Meine Erfahrungen mit Kupfervitriol waren also keine günstigen.

Einerseits unsichere Desinfektion!

Andererseits nachteilige Beeinflussung der Keimung durch dieses Gift, sogar bei nur kurz (5 Minuten) währender Einwirkung, wenn die Lösung konzentriert ist.

Viel früher von Nobbe und anderen angestellte Versuche mit Kupfervitriol (Nobbe, Samenkunde) ergaben bessere Erfolge.

Ausschlaggebend für die Verwendung des Kupfervitriols in praxi ist die Erfahrung gewesen, daß an Sicherheit und Energie in der Wirkung gegen Steinbrand und Flugbrand kein anderes Mittel dem Kupfervitriol gleichkommt.

Nach J. Kühn (Amtsbl. d. Landw. Vereins d. Kgr. Sachsen 1872) reicht schon eine $^1/_2$ stündige Einwirkung einer $^1/_2$ °/₀igen Kupfervitriollösung auf isolierte Brandsporen hin, um deren Lebenskraft zu vernichten.

Die Vorschrift Kühns geht dahin, daß 100 l einer $^1/_2$ °/₀igen Kupfervitriollösung auf 275 l Saatweizen gegeben und wiederholt umgerührt, dann 12 bis 16 Stunden damit stehen gelassen werden. Der Weizen wird dann ausgebreitet und fleißig gewendet. Nach wenigen Stunden kann er gesät werden.

Nach meinen eigenen Versuchen schadet Kupfervitriol bei tagelanger Einwirkung immer. Ich könnte also dieser Methode nicht das Wort reden.

Bezüglich des Alkohols macht Nobbe eine merkwürdige Mitteilung (a. a. O. S. 116):

„Quellungsunfähige Rotkleesamen, welche 4 Monate in absolutem Alkohol gelegen hatten, ohne dabei an Farbe oder

Volumen die geringste Änderung zu erfahren, erwiesen sich späterhin in destilliertem Wasser nicht quellfähiger als andere frische Samen derselben Probe. Diejenigen Körner aber, welche jetzt im Wasser aufgequollen waren, streckten dann auch in feuchter Luft alsbald die Würzelchen hervor. Der Alkohol hat mithin auch die Keimkraft nicht geschädigt."

Nobbe erklärt dies mit dem Wachsüberzug, den die Samen haben.

Sonst müßte ja in der Tat eine Vernichtung des Keimvermögens stattfinden, wenn der Alkohol eindringen würde.

Samen, die keinen solchen Überzug haben, werden natürlich getötet.

Auch gewässerter Alkohol muß schädliche Wirkung äußern, wenn er eindringt.

Faktisch hat Nobbe bei vielen Samen eine schädliche Wirkung festgestellt, wenn der Alkohol 24 Stunden lang einwirkte.

Nach 3 tägiger Einwirkung von 33%igem Alkohol keimte Weizen nicht mehr (ausgenommen 1 Pflänzchen von 100).

Von Lein keimte kein Samen mehr.

Bei einem weiteren Versuch keimten nach 3 tägiger Einquellung in 10%igem Alkohol von 100 Weizenkörnern 54, in 25%igem keines, in 50%igem auch keines, in 100%igem auch keines.

Hingegen von Rotklee bei 10%igem Alkohol 77, bei 25%igem 1, bei 50%igem 1, bei 100%igem 68!

Es ist sehr auffallend, daß 100%iger Alkohol weit weniger schadete als 25%iger.

Wahrscheinlich dringt in letzterem Falle (25%) der Alkohol zugleich mit dem Quellungswasser ein.

Bei Anwendung des absoluten Alkohols kommt es nicht zur Quellung.

„Sehr ungleich erscheint die Empfindlichkeit verschiedener Samengattungen gegen die Einwirkung des Alkohols.

Als besonders widerstandsfähig bewährt sich der Klee, selbst die quellbaren Körner; weit empfindlicher gegen den verdünnteren Alkohol ist der Lein, gegen höhere Mischungsverhältnisse auch Weizen.

In dem Maße, als mit zunehmendem Wassergehalt des

Alkohols die Quellungsenergie der Samen zunimmt und zugleich der Alkohol in den Samenkern eindringt, dessen Inhaltsbestandteile teils auflösend (ätherische Öle, Fette, Pigmente, Harze, Alkaloide, verschiedene Zuckerarten), teils koagulierend (Dextrin, Gummi, Diastase) wirken, wird auch das Leben des Embryos gefährdet sein[1]).

In der Tat wirkt absoluter Alkohol, in dem die Samen nicht aufzuquellen vermögen, unter Umständen minder nachteilig als wasserhaltiger von mittlerer Stärke." (Nobbe, a. a. O. S. 285.)

Nach meinen eigenen Versuchen ist starker Alkohol bei kurzer Einwirkung auf die Samen wohl zu dem angestrebten Zwecke zu gebrauchen.

Auch ein Zusatz von Alkohol zu anderen Pilzgiften empfiehlt sich. In letzterem Falle kommt der Alkohol mehr als Luftverdränger und Benetzung erwirkend wie als Pilztöter in Betracht; er bahnt dann dem zweiten Gifte den Weg zum Plasma.

Jedenfalls ist dem Alkohol Beachtung zu schenken.

Recht merkwürdige Dinge werden auch von der Einwirkung des Chlors auf die Samen berichtet.

Die Anwendung dieses viel berufenen Beizmittels geht zurück auf Alexander v. Humboldt; dieser sprach dem Chlor die Fähigkeit zu, die Reizbarkeit der Samen zu erhöhen und die Samenkeimung zu beschleunigen.

Humboldt legte im Jahre 1793 Samen von Pisum sativum in Wasser, das „mit oxygenisierter Salzsäure geschwängert" war und „erstaunte nicht wenig, denselben kurz darauf keimend zu finden".

Er schrieb die Erscheinung der Wirkung des von der fraglichen „Säure" entbundenen Sauerstoffs zu.

Während Salzsäure in so verdünntem Zustande, daß ein Tropfen davon auf der Zunge keinen Schmerz erregte, niemals eine Keimung zuließ, wirkte eine starke Auflösung von Chlor in Wasser so energisch auf die Samen von Lepidium sativum (Kresse) ein, daß dieselben nach $^1/_4$ Stunde „etwas gelb, frisch und mit unzähligen Blasen besetzt", nach $^1/_2$ Stunde „sehr auf-

---

[1]) Das Plasma wird durch den Alkohol getötet (B.).

geblasen" waren und nach 6 bis 7 Stunden keimten. Diese Keime waren in 1 Stunde bis zu einer Pariser Linie gediehen.

Gleichzeitig in einer Lösung von gemeiner Salzsäure angesetzte Samen fanden sich schwärzer, runzelig, aber nie keimend, und diejenigen, die in reinem Wasser gelegen hatten, keimten erst nach 36 bis 38 Stunden.

Die Chlorlösung Humboldts kann nur eine schwache gewesen sein und muß in geringer Gesamtmenge angewandt worden sein, so daß das vorhandene Chlor bald durch die vorhandene organische Substanz verbraucht war.

Sonst hätte die beschriebene Wirkung nicht eintreten können.

Chlor ist so giftig, auch für Keimlinge, daß in Gegenwart desselben die Keimung unmöglich vor sich gehen kann.

Man nehme etwa 100 ccm gesättigtes Chlorwasser (mit ungefähr 0,9 g Chlorgehalt) und bringe in dasselbe etwa 100 Kressensamen.

Niemals wird darin eine Keimung der Kresse vor sich gehen!

Faktisch haben manche gute Beobachter (wie Davy, Thaer u. a.) von der Anwendung des Chlors auf Samen experimentelle Erfolge nicht gehabt.

„Angesichts der peinlichen Vorsicht, welche für vergleichende Keimversuche nicht nur hinsichtlich des anzuwendenden Verdünnungsgrades und der Wirkungsdauer von Beizmitteln (hinzuzufügen wäre noch rücksichtlich der Gesamtmenge Gift und Samen), sondern auch der Keimungsbedingungen überhaupt erforderlich ist, erscheinen die Widersprüche in den früheren Resultaten und Schlußfolgerungen nur zu wohl begreiflich" (Nobbe, a. a. O.).

Aussichtslos scheint mir aber das Chlorwasser keineswegs zu sein, da es wohl eines der wirksamsten Pilzgifte ist und durch Umwandlung in Salzsäure rasch in ein schwächeres Gift übergeht.

Wenn die Mengen und Einwirkungszeiten richtig gewählt werden, muß es wohl Erfolge bringen.

Dasselbe gilt aber auch von anderen scharfen Bakteriengiften.

Im vorausgehenden ist eine Reihe von Versuchen des Verfassers mit verschiedenen Giften beschrieben, einerseits nach Desinfektionswirkung, andererseits nach Wirkung auf die Keimkraft.

Auf das Chlor kam ich hierbei nicht zu sprechen.

Aus den vor einiger Zeit in dieser Zeitschrift gemachten Mitteilungen (Bd. 50, Heft 1/2) sei nur hervorgehoben, daß schon 0,01 % Jod, wenn es auf die Keimlinge zur Einwirkung gelangt, dieselben schädigt.

Das Jod ist nun das wenigst energische von allen Halogenen.

Man wird also von dem Chlor nur eine noch energischere Wirkung auf Keimlinge erwarten können.

Nur wenn die Einwirkungszeit entsprechend eingeschränkt wird, mag das Chlor unschädlich sein.

Wie lange dieselbe bei einer gegebenen Konzentration höchstens sein dürfte, muß noch geprüft werden.

Nach den oben geschilderten Versuchen des Verfassers über Wirkungen verschiedener Chemikalien auf Samen bei bestimmter Konzentration der ersteren, bestimmten Einwirkungszeiten, bestimmten Temperaturen läßt sich ermessen, welche Aussichten auf Erfolg die früher von anderen Autoren mitgeteilten Methoden haben.

Es seien nur einige Beispiele (aus Nobbe, Samenkunde 1876) herausgegriffen.

Manchmal ist freilich bei diesen Versuchen ein anderer Zweck, nämlich die Keimungsförderung, ins Auge gefaßt worden

Dieser Gedanke dürfte jetzt in Wegfall kommen, da man wohl allenthalben zur Einsicht gekommen ist, daß normale Samen von selbst rasch genug keimen und kränkliche oder zu alte Samen auf keine Weise gebessert werden können.

Fleischer (Beiträge zur Lehre von dem Keimen der Samen, 1851) gibt an, daß Samen von Weizen, Dinkel, Gerste, Mais, Buchweizen, Runkeln, Raps, Sonnenblume, Lein, Hanf, Klee, wenn sie in Salzsäure, die mit 16 Teilen Wasser verdünnt wurde (also ca. 3 %iger Säure), 24 Stunden gequellt wurden, teilweise getötet, zum Teil geschädigt werden.

Gänzlich getötet wurden Klee, Raps, Lein, Hanf.

Die übrigen Samen, namentlich Cerealien, erfuhren geringere Benachteiligung.

Die Einwirkung der 3 %igen Salzsäure dauerte zu lange!

Durch 6 %ige Schwefelsäure wurde bei 24stündiger Einwirkung Raps, Lein, Hanf und Klee getötet.

Runkeln aber gingen sämtlich auf. Von Weizen, Gerste und Sonnenblumen keimte $^1/_3$ der Samen, von Mais $^2/_3$ usw.

Es scheint, daß manche Samen die Säure nur sehr langsam eindringen lassen.

Nach Vogel jun. (Chem. Centralbl.) gestattet 0,08 %ige Schwefelsäure noch eine vollständige Keimung, stärkere nicht. Bei wie langer Einwirkung?

E. Dreisch (Inaug.-Diss. 1873) quellte Weizenkörner $17\frac{1}{2}$ Stunden in einer 0,75 %igen Schwefelsäure (10 ccm auf 100 Körner) und erzielte 94 % Keimpflänzchen. Waren sie von normaler Entwicklung?

Andere Angaben über Säuren seien übergangen, da Zeitangaben fehlen und zahlreiche Widersprüche gemeldet werden.

Nach Fleischer (a. a. O.) bewirkt 11 %ige Eisenvitriollösung bei 48stündiger Einquellung der Samen in dieser Lösung völliges Ausbleiben der Keimung am Rotklee. Von Mais und Sonnenblumensamen blieben $\frac{1}{4}$ unentwickelt, von Weizen $\frac{1}{6}$, ebenso von Hanf.

P. Sorauer (Annal. d. Landw. i. d. kgl. preuß. Staaten, 1871) ließ Weizen, der in einer $3\frac{1}{2}$ %igen Eisenvitriollösung 72 Stunden gequellt worden war, auf feuchtem Fließpapier keimen und erzielte von mit der Hand ausgeriebenen Körnern 83 %, von Handdruschprodukt 68 %, von Maschinendruschkorn 69 % Keimlinge.

Alles in allem genommen, kann man sich nur wundern, daß 11 %ige Eisenvitriollösung keinen größeren Schaden stiftet.

Das schwefelsaure Kupfer (Kupfervitriol) wurde von Benedict Prevost (Mémoire sur la cause de la carie et du charbon des blés, Montauban 1817) gegen die Getreidebrandpilze als Schutzmittel empfohlen und dann von Julius Kühn (Krankheiten der Kulturgewächse, Berlin 1858) weiter gelobt.

„Die hohe praktische Bedeutung, welche die Verheerungen der Brandpilze in Anspruch nehmen, hat die Aufmerksamkeit seit lange auf dieses Beizmittel gelenkt und zahlreiche sehr widersprechende Versuchsergebnisse gezeitigt. Letztere können zugleich als Beleg für den Einfluß dienen, welchen die Methode auf das Ergebnis von Keimungsversuchen auszuüben vermag“ (Nobbe, a. a. O. S. 273).

Die einen fanden, daß Weizen und Gerste nach Kupfervitriolbehandlung nicht mehr keimen, die anderen, daß die Keimung zwar verzögert werde, aber doch eintrete.

Es kommt natürlich auf die Konzentration und auf die Zeit der Einwirkung an.

Nobbe, dann Dreisch und ferner Haberland stellten die Sache dann dahin richtig, daß eine längere 6 bis 24 Stunden dauernde Einwirkung von 0,1 oder gar 0,5 und 1 %iger Kupfervitriollösung immer schadet.

Nach den vorstehend geschilderten Versuchen des Verfassers ist es auf mehrere Arten möglich, die Samen zu desinfizieren.

Manche der Methoden dürften sich wohl nur für Arbeiten mit Samen im Laboratorium eignen.

Als geeignet zur Samendesinfektion erwiesen sich folgende Methoden:

a) $^1/_2$ Minute lange Behandlung der Samen mit kochendheißer 0,1 %iger Kupfervitriollösung.

b) $^1/_2$ Minute lange Behandlung der Samen mit kochendheißer 1 %iger Essigsäure.

c) 1 Minute lange Einwirkung von 96 %igem Alkohol bei 15° auf die Sämereien.

d) $^1/_2$ Minute währende Behandlung der Samen mit 1 %iger siedendheißer Soda- (Krystallsoda-) Lösung.

e) $^1/_2$ Minute dauernde Einwirkung kochendheißer 1 %iger Essigsäurelösung auf die Samen.

f) 1 Minute dauernde Einwirkung von 96 %igem Alkohol bei Kochtemperatur.

g) Alkoholische Kalilauge (50 ccm Kalilösung von 30 % und 50 ccm Alkohol von 96 %) bei 1 Minute dauernder Einwirkung und 15°.

h) Alkoholische Salzsäure (siehe Tabelle) bei $^1/_2$ Minute und gewöhnlicher Temperatur.

Nicht geeignet schienen mir folgende Methoden zu sein:

1. 40stündige Einquellung von Samen in 0,5 %iger Kupfervitriollösung von gewöhnlicher Temperatur. Auch 4 Stunden scheinen meist zu lange zu sein.

2. $^1/_4$ stündige Behandlung der Samen mit 0,5 % Kupfervitriol von 60°.

3. 2tägige Behandlung der Sämereien mit Kupfervitriollösung von 0,1 % bei gewöhnlicher Temperatur.

4. $^1/_2$ Minute lange Behandlung mit kochendheißer Kupfervitriollösung von 2 bis 10 %.

5. $^1/_2$ Minute lange Einwirkung von 0,1 %iger siedendheißer Permanganatlösung auf die Samen.

6. Kochendheißes Wasser bei 2 Minuten langer Einwirkung.

7. Alkoholische Formaldehydlösung von oben beschriebener Zusammensetzung bei 1 Minute und gewöhnlicher Temperatur.

8. Alkoholische Carbollösung (siehe Tabelle) bei 1 Minute und gewöhnlicher Temperatur.

9. Alkoholische Essigsäure (siehe Tabelle) bei $^1/_2$ Minute und gewöhnlicher Temperatur.

10. Eisessig bei $^1/_2$ Minute und gewöhnlicher Temperatur.

11. Kupfervitriol von 10 % bei 5 Minuten und gewöhnlicher Temperatur.

Beiträge zur physiologischen Chemie des Cholesterins und der Cholesterinester.

I. Die Digitoninmethode zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins und der Cholesterinester.

Von

Th. E. Hess Thaysen (Kopenhagen).

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund und dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 19. März 1914.)

Obschon fast anderthalb Jahrhundert vergangen sind seit der Entdeckung des Cholesterins[1]) durch Poulletier de la Sage[2]) (1770), Conradi[3]) (1775) und Green[4]) (1783), hat dieser Stoff erst in den letzten Dezennien ein allgemeineres Interesse erregen können.

Während seine wichtigsten chemischen Eigenschaften schon von Chevreul[5]) (1815) und Berthelot[6]) (1859) festgestellt worden sind, sind unsere Kenntnisse über die Konstitution und die Stellung dieses Stoffes im Rahmen unseres chemischen Systems erst durch zahlreiche Untersuchungen der Neuzeit wesentlich gefördert worden. Dank den mühsamen Arbeiten zahlreicher Chemiker, von denen besonders Reinitzer, Mauthner und Suida, Obermüller, Windaus und Stein zu

---

[1]) Der Name Cholesterin rührt von Chevreul 1815 her und bedeutet feste Galle von χολή = Galle und στερεα = fest, also nicht Gallenfett.

[2]) Siehe Fourcroy, Examen chimique de la substance feuilletée etc Annal. d. Chim. **3**, 242, 1789.

[3]) Inaug.-Diss. Jena 1775.

[4]) Inaug.-Diss. Halle 1783.

[5]) Annal. de Chimie **95**, 1, 1815.

[6]) Annal. de Chimie 3. Serie, **1859**, S. 53.

nennen sind, ist die verwickelte Konstitution des Chl.s[1]) in ihrer Aufklärung ein gutes Stück weitergerückt, und es hat sich gezeigt, daß das Chl. am ehesten zu den Terpenen gehört und chemisch gesehen nichts mit den Fetten, Eiweißkörpern oder Kohlenhydraten zu tun hat (Windaus und Stein[2]).

Bis zur Mitte des vorigen Jahrhunderts bedeutete nur die Entdeckung Benekes[3]) (1862), daß das Chl. auch im Pflanzenreich vorhanden war, eine wesentliche Erweiterung unserer Kenntnisse zur Physiologie des Chl.s. Erst in den letzten Jahren ist das Interesse für die Physiologie dieses Stoffes mehr allgemein geworden, besonders nachdem Overton[4]) (1901) die Theorie aufstellte, daß jede Zelle von einer aus Chl. und Lecithin bestehenden Membran umgeben ist, und Phisalix[5]) (1897) und Ransom[6]) (1901) gezeigt hatten, daß das Chl. antitoxische Eigenschaften besaß. Schon 1895 hatte Hürthle[7]) die Chl.-Ester[8]) des Blutserums entdeckt, und somit gezeigt, daß die schon von Berthelot[9]) 1859 synthetisch dargestellten Estern des Chl.s auch im Tierkörper vorhanden waren.

Der Mangel einer exakten Methode zur quantitativen Bestimmung des Chl.s hat aber in wesentlichem Grade das Studium über die Physiologie des Chl.s gehemmt. Zahlreiche Methoden sind vorgeschlagen worden, gewichtsanalytische, titrimetrische und colorimetrische, die immer wieder modifiziert und „verbessert" worden sind. Nachdem aber Windaus[10]) entdeckte, daß das Chl. mit Digitonin eine in Äther unlösliche Verbindung einging und daß diese Reaktion quantitativ verlief, war die Möglichkeit geschaffen, unsere Kenntnisse zur Physiologie des Chl.s auf der Basis exakter chemischer Untersuchungen zu erweitern. Und da Windaus gleichzeitig fand, daß die Chl.-Ester nicht von einer Digitoninlösung gefällt wurden,

[1]) Chl. = Cholesterin.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 3699, 1903.
[3]) Annal. d. Chem. u. Pharmakol. 122, 249, 1862.
[4]) Studien über die Narkose. Jena 1901.
[5]) Compt. rend. Soc. Biol. 10. Serie, 4, 1047, 1897.
[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 27, S. 194.
[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 331, 1895/96.
[8]) Chl.-Ester = Cholesterinester.
[9]) l. c. S. 89.
[10]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 238, 1909.

war mit einmal eine Methode zur quantitativen Bestimmung dieser Stoffe gegeben, die man bisher völlig entbehrte.

Seit ihrer Beschreibung (1909) ist die Windausche Digitoninmethode in zahlreichen Untersuchungen über die physiologische und pathologische Chemie des Chl.s und der Chl.-Ester gebraucht worden, und der Eifer, mit welchem man sie angewandt hat, zeigt am besten, wie groß der Bedarf nach einer exakten Methode war.

Auf die Mängel der älteren Methoden werde ich hier nicht eingehen, ich verweise diesbezüglich auf Ritters[1]) Abhandlung. Ich möchte nur eine von den japanischen Forschern Kumagawa und Suto[2]) angegebene Methodik, zur quantitativen Bestimmung des Chl.s nebst anderen unverseifbaren Substanzen, kurz kritisieren, weil diese Methode als eine schnelle und zuverlässige gepriesen wird und bereits in die Handbücher übergegangen ist.

Das Organpulver wird mit $20^0/_0$ Natronlauge 2 Stunden im Wasserbade gekocht; das Gemisch danach mit HCl überneutralisiert, und um das freigemachte Chl. mit den freien Fettsäuren zu extrahieren, wird die Flüssigkeit mit Äther im Scheidetrichter geschüttelt. Die wässerige Lösung wird wie der Äther abgegossen, der gebildete Niederschlag wird in Na-Lauge gelöst und wieder mit Äther geschüttelt. Der Äther wird verjagt, der Rückstand bei 50^0 getrocknet und mit Petroläther versetzt. Dieser wird filtriert und zur Entfernung der freien Fettsäuren wird der Petroläther mit $^n/_5$ absolutem alkoholischem Kali im Scheidetrichter geschüttelt, später Wasser zugesetzt, um den Alkohol bis auf $50^0/_0$ zu verdünnen. Der wässerige Alkohol wird noch einmal mit Petroläther geschüttelt, die ätherischen Auszügen vereinigt, der Rückstand besteht aus Chl. und anderen unverseifbaren Substanzen. Ich habe den Chl.-Gehalt des Rückstandes nach der Digitoninmethode bestimmt.

Zur Kontrolle dieser Methode habe ich nun einige Versuche angestellt. Es zeigte sich, daß eine bzw. zwei Ätherausschüttelungen des mit Na-Lauge gekochten Organpulvers

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 43, 1901/02.

[2]) Diese Zeitschr. 8, 338, 1908.

ganz unzureichend waren, um das Chl. vollständig zu entfernen. Nach meinen Versuchen war das Gemisch erst nach neun Ausschüttelungen cholesterinfrei. Zweitens beweist ein weiterer Versuch, daß nur ein verschwindender Teil der Chl.-Ester von der Na-Lauge gespalten werden kann, der größte Teil dieser Stoffe wird als „unverseifbare Substanz" bestimmt.

Versuch	1:	Extr.	I	enthielt	12,2 mg	Cholesterin	(freies)
„	1:	„	IV	„	0,8 mg	„	„
„	1:	„	VII	„	0,3 mg	„	„
„	2:	„	I	„	10,4 mg	„	„
„	2:	„	II	„	3,0 mg	„	„
„	2:	„	VI	„	0,4 mg	„	„
„	2:	„	VII	„	0,5 mg	„	„

Im zweiten Versuch wurde die Natronlauge nicht mit Salzsäure neutralisiert, um den Äther nicht mit freien Fettsäuren zu verunreigen.

Verseifung des Chl.-Oleats mit 20% NaOH.

24 mg Chl.-Oleat wurde 2 Stunden mit 25 ccm 20% NaOH gekocht, nach der Verseifung mit Äther mehrmals ausgeschüttelt, die vereinigten Auszüge enthielten 0,5 mg Chl., was 0,85 mg Ester entspricht. Es waren also nur ca. 3,5% der Ester verseift worden[1]).

Kumagawa und Sutos Methode ist also zur quantitativen Bestimmung des Chls unbrauchbar. Die verseifbaren Chl.-Ester werden größtenteils als unverseifbare Substanz bestimmt.

Zu demselben Resultat ist Berczeller[2]) für das Blut gelangt. Er konnte ca. 20 bis 30% des Gesamtfettes des Blutes wiedergewinnen, wenn er den nach Kumagawa und Suto ätherextrahierten Niederschlag (siehe oben) im Soxhlet extrahierte.

---

[1]) Die schon von Berthelot (l. c. S. 89) (1859) gemachte Beobachtung, daß die Chl.-Ester weit schwieriger zu verseifen sind als die Triglyceride, scheint später völlig in Vergessenheit geraten zu sein. Berthelot gibt an, daß er das Cholesterylstearat erst nach 8tägigem Kochen mit starken wässerigen Alkalien spalten konnte.

[2]) Diese Zeitschr. 44, 193, 1912.

Die Digitoninmethode zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins und der Cholesterinester nach Windaus.[1])

Die Organe werden zerkleinert und mit der 3fachen Menge wasserfreien Gips versetzt; nach dem Erhärten wird die Masse staubfein gepulvert und in einem großen Soxhlet-Apparat 3 bis 5 Tage mit Äther (oder Petroläther) extrahiert. Der Extrakt wird eingedampft, der Rückstand in der 30fachen Menge 95%igen Alkohols heiß gelöst; sollte der Rückstand in heißem Alkohol nicht vollständig löslich sein, so wird für die Fällung nur der in Alkohol lösliche Teil verwendet. Der unlösliche Anteil, der, wie die Digitoninprobe ergibt, nach mehrfachem Auskochen mit Alkohol kein freies Chl. mehr enthält, wird in einem Äther-Alkoholgemisch gelöst und mit dem Filtrat des Digitonincholesterids vereinigt. Die alkoholische Lösung wird mit einer 1%igen Digitoninlösung in geringem Überschuß versetzt. Nach mehreren Stunden wird das ausgefällte Digitonincholesterid abfiltriert, mit Alkohol und mit Äther gewaschen, getrocknet und gewogen. Das Filtrat des Digitonincholesterids wird konzentriert und nach Zusatz von Wasser mit Petroläther (oder auch mit Äther) ausgeschüttelt. Hierbei bleibt das überschüssig zugesetzte Digitonin in der wässerig alkoholischen Lösung, während Chl.-Ester, Fette und andere Lipoide in den Petroläther übergehen. Zur quantitativen Bestimmung der Chl.-Ester wird der Petroläther abdestilliert, der Rückstand mit alkoholischem Natriumäthylat in der Hitze verseift, das hierbei gebildete Chl. in der üblichen Weise durch Ausschütteln mit Petroläther isoliert und nach der Digitoninmethode quantitativ bestimmt. Diese zweite Fällung ergibt die Menge des gebundenen Chl.s, das ursprünglich als Ester vorhanden war.

Soweit mir bekannt, ist die Digitoninmethode nur von den englischen Forschern Lapwood[2]), Fraser und Gardner[3]) nachgeprüft worden.

Ersterer scheint sehr eingehende Kontrollversuche gemacht zu haben, er hat jedoch seine Versuchsprotokolle nicht veröffentlicht. Die Bedeutung des Digitoninüberschusses, die

---

[1]) Zeitschr. f. Physiol. Chemie 65, 1910, S. 110.
[2]) Journ. of Pathol. and Bact. 15, 254, 1911.
[3]) Proc. Roy. Soc. Serie B, 82, 230, 1909.

Schwierigkeit der Extraktion der Chl.-Ester aus dem Filtrat der Digitonincholesterid-Fällung für freies Chl., ebenso wie viele andere Schwierigkeiten in der Methodik scheinen ihm völlig entgangen zu sein.

Fraser und Gardner haben einige Kontrollversuche veröffentlicht und die Technik etwas modifiziert. Zur Bestimmung des freien Chl.s wurde die alkoholische Lösung des Extrakts mit der Digitoninlösung versetzt, der Alkohol im Vakuum abgedampft, der Rückstand mit Äther aufgenommen und auf tariertem Filter oder „Gooch"-Tiegel filtriert und mit Alkohol und Äther gewaschen. Um das überschüssige Digitonin zu entfernen, wird die Fällung mit warmem Wasser gewaschen, in dem das Digitonin löslich ist, später wird mit Alkohol und Äther nachgespült. Da aber das Digitonincholesterid, wie man sich überaus leicht überzeugen kann, im heißen (50°) Wasser gar nicht unlöslich ist, wird man Verluste erleiden können, die man vermeiden muß, wenn man Versuche zur Kontrolle der Methode macht, die aber vielleicht beim Arbeiten mit größeren Chl.-Mengen keine bedeutende Rolle spielen werden. Die Methode ist trotzdem nicht zu empfehlen, speziell weil die Fällung in alkoholischer Lösung so ausgezeichnete Resultate gibt, wenn man auf die Bedeutung des Digitoninüberschusses Rücksicht nimmt. Ferner haben Fraser und Gardner konstatieren können, daß das Vorhandensein von Fett nicht den quantitativen Verlauf der Chl.-Digitonin-Reaktion beeinflußt. Auch haben sie Versuche über die Verseifbarkeit des Chl.-Ölsäureesters mit Natriumalkoholat angestellt, geben aber nicht an, wie lange die Verseifung ausgedehnt werden muß; haben auch nicht geprüft, ob die Chl.-Ester der Organe schwieriger als der Ölsäureester verseift werden. Zur Extraktion der Organe und des Blutes wenden sie einfach Äther an und benützen die Fränkelsche Salztrocknungsmethode. Auf die Einzelheiten der Methode gehen die Verfasser nicht ein.

Es lag also Grund genug vor, die Digitoninmethode einer genauen kritischen Untersuchung zu unterwerfen, da noch zahlreiche Einzelheiten nicht nachgeprüft worden sind. Meine Kontrolluntersuchungen habe ich in folgender Reihenfolge angestellt:

1. Versuche über die Fällung des Chl.s in rein alkoholischer Lösung mit Digitonin.

2. Fällung des Chl.s mit Digitonin in alkoholischer Lösung mit Fett und freien Fettsäuren zusammen.

3. Fällung des Chl.s mit Digitonin in alkoholischer phosphatid-haltiger Lösung.

4. Verseifung der Chl.-Ester.

5. Extraktion des Chl.s aus einer Seifenlösung im Scheidetrichter mit Äther.

6. Vorbereitung der Organe zur Extraktion.

7. Wahl des Extraktionsmittels.

8. Die Bestimmung des freien und gebundenen Chl.s in Organextrakten.

1. Quantitative Bestimmung des Cholesterins in rein alkoholischer Lösung mittels einer 1%igen Digitoninlösung.

Versuchstechnik: Eine bis zur Konstanz getrocknete Menge Chl.[1]) wurde abgewogen, in 96%igem Alkohol gelöst, in ein Meßkölbchen gegossen und dies bis zur Marke mit 96%igem Alkohol aufgefüllt. In jeder Versuchsserie wurde mit einer fein kalibrierten Pipette eine bestimmte Menge der Chl.-Lösung teils in eine Platinschale, teils in mehrere sorgfältig gereinigte Gläser pipettiert. Der Alkohol in der Platinschale wurde abgedampft und das zurückgebliebene Chl. gewogen.

Ich erhielt also eine doppelte Kontrolle für die angewandte Chl.-Menge. Zu der Chl.-Lösung in den Bechergläsern wurde eine bestimmte Menge Alkohol gegossen, das Ganze bis zum Sieden gebracht und mit einer bestimmten Menge der ebenfalls kochenden Digitoninlösung versetzt, wonach das gebildete Dchl.[2]) schnell ausfiel. Nach 10 bis 12 Stunden wurde auf tariertem Filter filtriert und das ausgefällte Dchl. quantitativ bestimmt.

Aus der Formel Chl. = Dchl. $\times$ 0,2431 wurde die ausgefällte Chl.-Menge berechnet.

[1]) Das in den Versuchen angewandte Chl. wurde aus Gallensteinen rein dargestellt (Schmelzpunkt 146°), das Digitonin, von Merck als Digitoninum purissimum bezogen, zeigte alle die für Digitonin charakteristischen Eigenschaften, die Kiliani (Über Digitonin und Digitogenin. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 339, 1891) beschrieben hat.

[2]) Dchl. = Digitonincholesterid.

Tabelle I.

Versuch Nr.	Cholesterinlösung °/oo	Digitoninüberschuß °/oo	Angewandtes Volumen Alkohol ccm	Berechnete Cholesterinmenge mg	Menge des ausgefällten Digitonincholesterids g	Gefundene Cholesterinmenge mg	Differenz mg
1	0,18	0,1	25	4,6	0,0149	3,6	— 1,0
2	0,18	0,1	25	4,6	0,0148	3,6	— 1,0
3	0,23	0,2	10	2,3	0,0076	1,8	— 0,5
4	0,23	0,2	10	2,3	0,0080	1,9	— 0,4
5	0,43	0,8	50	21,5	0,0851	20,7	— 0,8
6	3,10	1,5	15	4,6	0,0181	4,4	— 0,2
7	3,10	1,5	15	4,6	0,0186	4,5	— 0,1
8	0,25	2,2	15	3,4	0,0144	3,5	+ 0,1
9	0,25	2,2	15	3,4	0,0138	3,4	—
10	1,40	2,5	20	27,6	0,1141	27,7	+ 0,1
11	1,40	2,5	20	27,6	0,1135	27,6	—
12	0,99	3,8	20	19,9	0,0820	19,9	—
13	0,99	3,8	20	19,9	0,0813	19,8	— 0,1
14	0,13	6,1	30	3,8	0,0154	3,8	—

In den 5 ersten Versuchen ist die berechnete Chl.-Menge viel niedriger als die angewandte gewesen, die Fällung war bei weitem nicht quantitativ. Dies war aber in den letzten Versuchen (6 bis 14) der Fall, wo der Fehler nur ca. 0,2 mg betrug.

Diese schlechte Übereinstimmung wird durch die Zahlen der Kolonne 3 erklärt, woraus hervorgeht, daß ich in den letzten 9 Versuchen einen viel größeren Digitoninüberschuß gebraucht habe als in den ersten.

Unter Digitoninüberschuß verstehe ich die Menge zugesetzten Digitonins, die nicht zum Chl. als Dchl. gebunden ist, sondern frei in Lösung bleibt. Er wird leicht aus der Formel berechnet:

$$\text{Digitoninüberschuß} = A - (\text{Dchl.} - \text{Chl.}),$$

wo A die totale Menge des angewandten Digitonins bedeutet.

Es hat sich also gezeigt, daß die quantitative Bestimmung des Chl.s von der Größe des Digitoninüberschusses abhängt. In meinen hier zitierten Versuchen war ein Überschuß von 1,5 °/oo ausreichend, um die Fällung quantitativ zu machen. Für jedes neue Digitoninpräparat (Merck) muß die notwendige Größe des Überschusses festgesetzt werden, weil man auf die Reinheit der Präparate nicht sicher rechnen kann; z. B. erforderte eines meiner Präparate einen Überschuß von 1,5 °/oo, ein anderes ca. 2,5 °/oo, ein drittes 1,7 bis 2 °/oo, ein viertes 1,5 bis 1,8 °/oo usw.

Das Digitonin muß also in einem Überschuß von einer bestimmten Größe gebraucht werden, und wenn dies getan wird, darf man für die Löslichkeit des Dchl.s nicht irgendwelche Korrektion einführen, wie dies Windaus vorgeschlagen hat.

Daß dies notwendig ist, nicht nur für die Beurteilung der Digitoninmethode durch Kontrollversuche, sondern auch beim praktischen Arbeiten mit derselben, zeigte folgender Versuch, mit Leber (Lamm) ausgeführt:

Rechter Lappen: 19,1 mg Chl. berechnet aus Dchl. × 0,2431. Alkoholmenge 150 ccm.

Linker Lappen: 20,1 mg Chl. berechnet aus Dchl. × 0,2431. Alkoholvolumen 50 ccm.

Korrigiert man im ersten Falle für die Löslichkeit des Dchl.s nach Windaus[1]), so muß dieser Lappen also 19,1 + 6 mg Chl. enthalten, der linke dagegen 20,1 + 2 mg, was in Prozenten auf Trockensubstanz berechnet 0,49 % Chl. für ersteren, 0,39 % für letzteren gibt. Weitere Versuche zeigten, daß das Chl. ganz gleichmäßig überall in der Leber verteilt ist.

Weiter geht aus der Tabelle hervor (Versuch 5, 10 bis 13), daß es notwendig ist, die Menge des gefundenen Chl.s durch Multiplikation des Dchl.s mit 0,2431 zu berechnen, und nicht, wie Windaus[2]) und nach ihm Lapwood[3]), Herrmann und Neumann[4]) empfohlen haben, die Menge des Dchl.s einfach mit 4 zu dividieren. Gebraucht man nämlich den notwendigen Digitoninüberschuß, so bekommt man mit der einfachen Divisionsmethode zu hohe Werte, was ja natürlich für die praktische Brauchbarkeit der Methode nur beim Arbeiten mit größeren Chl.-Mengen Bedeutung hat.

Nach den ersten Angaben Windaus[5]) ist die Ausfällung des Dchl.s nach Verlauf von 1 Stunde komplett, später riet er, mehrere Stunden zu warten, bevor man filtriert.

Um eine endgültige Antwort auf diese Frage zu erhalten, habe ich einige Versuche angestellt, aus denen hervorgeht, daß die Fällung jedenfalls nach 2 Stunden vollständig ist.

[1]) l. c. S. 90.
[2]) l. c. S. 93.
[3]) Journ. of Pathol. and Bacteriol. **15**, 254, 1911.
[4]) Diese Zeitschr. **48**, 47, 1912.
[5]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, I, 238, 1909.

2. Quantitative Bestimmung des Cholesterins in alkoholischer Lösung mit Fett und freien Fettsäuren.

In diesen Versuchen gebrauchte ich das Palmöl, das den großen Vorzug besitzt, praktisch frei von Chl. zu sein und reichliche Mengen von Fettsäuren (ca. 40 %) zu enthalten. In alkoholischer Lösung gab das Palmöl, von Kahlbaum bezogen, keinen Niederschlag mit Digitonin, und in Chloroform gelöst weder die Liebermann-Buchardtsche noch die Salkowskische Reaktion.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Cholesterinlösung ‰	Verhältnis zwischen angewandtem Cholesterin u. Fettmenge	Absol. Cholesterinmenge mg	Ausgefällt Dchl. g	Berechnetes Cholesterin mg	Digitoninüberschuß ‰	Alkoholvolumen ccm
1	0,80	1 : 2,4	16,1	0,0663	16,1	1,6	19
2	0,73	1 : 3,2	16,1	0,0658	16,0	1,4	22
3	0,73	1 : 3,2	16,8	0,0688	16,9	1,6	23
4	0,35	1 : 7,0	7,0	0,0288	7,0	1,9	20
5	0,22	1 : 13,0	7,0	0,0288	7,0	2,5	31
6	0,17	1 : 19,0	7,0	0,0284	6,9	2,9	42
7	0,20	1 : 23,0	5,0	0,0165	4,9	2,0	24

Die Ausfällung des Chl.s war in allen Versuchen eine quantitative. Das Verhältnis zwischen den angewandten Mengen Chl. und Palmöl ist so sehr variiert, daß es sicher alle in normalen Organen vorkommenden Variationen deckt.

3. Quantitative Bestimmung des Cholesterins in alkoholischer Lösung mit Phosphatiden.

Die quantitative Fällung des Chl.s mittels Digitonin wird auch nicht beim Vorhandensein alkohollöslicher **Phosphatide** beeinflußt. Das Phosphatidgemisch (0,25 %) wurde aus Eidotter in gewöhnlicher Weise hergestellt und war cholesterinfrei.

Tabelle III.

Versuch Nr.	Cholesterinlösung ‰	Digitoninüberschuß ‰	Absolute Cholesterinmenge mg	Ausgefällt Dchl. g	Berechnete Cholesterinmenge mg
1	0,13	1,7	4,5	0,0178	4,3
2	0,90	2,0	20,8	0,0892	20,5

4. Verseifung der Cholesterinester.

Einige Verfasser, Darmstädter und Liefschütz[1]), geben an, daß das Chl. durch kräftige Einwirkung alkoholischer Kalilauge verändert wird, während andere, Ritter[2]) und Windaus[3]), behaupten, daß selbst starke Reduktionsmittel wie Natriumalkoholat das Chl. völlig unverändert lassen. Obermüller[4]) konnte auch das Chl. quantitativ wiedergewinnen nach einer energischen Behandlung mit Natriumalkoholat.

In 2 Versuchen habe ich nun feststellen können, daß das Chl. bei einer 4stündigen Behandlung mit Natriumalkoholat in der Wärme jedenfalls nicht auf eine für seine quantitative Bestimmung mittels Digitonin schädliche Weise verändert wird.

Im ersten Versuch fand ich nach der „Verseifung" durch Ausschüttelung mit Äther im Scheidetrichter 38,7 mg Chl., die berechnete Menge war 38,9 mg; im zweiten Versuch 21,0 und 21,1 mg.

Zur Untersuchung der Verseifbarkeit der Chl.-Ester wurde das Chl.-Oleat synthetisch nach den Angaben Hurthles[5]) hergestellt. Beiläufig soll nur bemerkt werden, daß das Oleat am schönsten aus 96 %igem Alkohol krystallisiert, weit weniger gut aus absolutem oder Äther-Alkohol. Das von mir hergestellte Oleat zeigte einen Schmelzpunkt von 42°.

Die Verseifung wurde nunmehr auf folgende Weise ausgeführt[6]).

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 1122, 1898.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 461, 1901/02.

[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 3681, 1907.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 16, 37, 1892.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 331, 1895/96.

[6]) Der in diesen Versuchen gebrauchte Alkohol war ein 97,7 %iger; 100 ccm des Alkohols wurden mit 5 g metallischem Na versetzt, von welchem ca. 2,7 g zur Bildung von Na-Hydroxyd mit dem Wasser des Alkohols verbraucht wurden, der Rest 2,3 g ging mit dem jetzt wasserfreien Alkohol als Natriumalkoholat in Verbindung. Sonst habe ich immer zur Verseifung der Organextrakte Natriumalkoholat, aus absolutem Alkohol (ca. 99,5 %) hergestellt, gebraucht.

Tabelle IV.
Versuche über die Spaltung des Cholesteryloleats mittels Natriumalkoholat.

Extrakt Nr.	Extraktionszeit Std.	Digitoninüberschuß ‰	Menge des angewandten Cholesteryloleats mg	Gefundenes Cholesterin nach Verseifung mg	Gefundenes Cholesterin als Cholesteryloleat mg	Verseifungszeit Std.
I u. II	12	1,6	57,3	24,04	40,8	1
III	12	> 2	—	0,14		
I, II, III	30	1,5	55,1	31,40	53,2	2
I	12	1,8	46,0	26,50	45,1	3
II u. III	12	> 2	—	0,20		
I	12	2,3	39,0	22,70	38,9	4
II u. III	12	> 2,5	—	0,30		

Eine zum Gewichtskonstanz über H_2SO_4 im Vakuum getrocknete Menge des Oleats wurde in ein Kjeldahl-Kölbchen übergeführt. So viel absoluter Alkohol wurde zugesetzt, daß die Konzentration ca. 1,8‰ wurde. Eine gewisse Menge blankes Na (1,3 g zu 25 ccm Alkohol) wurde abgewogen und in das Verseifungskölbchen gebracht und das Ganze unter Rückflußkühlung auf dem Wasserbade gekocht. Nach Verlauf von

1 Stunde sind 71,20%,
2 Stunden „ 96,55%,
3 „ „ 97,61%,
4 „ „ 99,74%

des Oleats verseift.

Die Konzentration der alkoholischen Chl.-Esterlösung war in allen Versuchen ca. 1,8‰. In einem späteren Versuch mit Chl.-Oleatkonzentration 0,9‰ war die Verseifung nach 2 Stunden komplett; berechnet Chl.-Oleat 32,9 mg, gefunden 32,9 mg.

5. Extraktion des Cholesterins aus einer alkalischen Seifenlösung im Scheidetrichter mit Äther.

Versuchstechnik: Eine gewogene Menge Chl. wurde in sehr wenig heißem Alkohol (2 bis 3 ccm) oder Äther (1 bis 2 ccm) gelöst, die Lösung mit einer 2,5%igen wässerigen Lösung von Chl.-freiem ölsaurem Natron gemischt, der Alkohol resp. Äther auf dem Wasserbade verjagt und die Chl.-Seifenlösung mit 10 ccm 50%iger NaOH-Lösung stark alkalisiert. Nach Abkühlen der Lösung wurde sie quantitativ in einen Scheidetrichter gegossen und mit Äther geschüttelt. Nach ungefähr 12 Stunden wurde

die Seifenlösung abgezapft, der Äther gewaschen usw. und ihr Gehalt an Chl. durch die Digitoninmethode bestimmt. Die 2 bis 3 ersten Portionen des Waschwassers wurden zu der abgezapften Seifenlösung gesetzt und wieder extrahiert.

Tabelle V.

Extrakt Nr.	Extraktionszeit Std.	Digitoninüberschuß ‰	Ausgefälltes Oleat g	Berechnete Cholesterinmenge mg	Gehalt des Extraktes der absoluten Cholesterinmenge %	Versuch Nr.
I	12	2,2	0,2265	55,1	94,02	1
II	—	4,5	0,0094	2,3	3,94	Absolute Cholesterinmenge 58,6 mg;
III	—	4,5	0,0021	0,5	0,85	gefunden in allen
IV	—	6,0	0,0013	0,3	0,51	Extrakten 58,4 mg.
V	—	—	0,0012	0,2	0,34	
VI	—	—	Spuren	—	—	
I	12	1,8	0,1401	34,1	92,66	2
II	—	2,9	0,0079	1,9	5,16	Absolute Cholesterinmenge 36,8 mg:
III	8	3,0	0,0017	0,4	1,08	gefunden in allen
IV	—	2,0	0,0005	0,1	0,25	Extrakten 36,6 mg.
V	—	2,0	0,0004	0,1	0,25	
VI	—	—	Spuren	—	—	
I u. II	à 2	2,5	0,0828	20,1	92,20	3
III, IV und V	à 2	2,5	0,0072	1,7	7,80	Absolute Cholesterinmenge 21,8 mg; gefunden in allen Extrakten 21,8 mg.

Die Tabelle zeigt, daß man zwar das Chl. quantitativ extrahieren kann, doch daß diese Extraktionsweise eine überaus langwierige und zeitraubende ist. Die größte Menge des Chl.s geht in den ersten Extrakt über 94,02 % und 92,66 %, bedeutend weniger, ca. 3,94 und 5,16 %, in den zweiten, während die übrigen 2 % des Chl.s sehr langsam extrahiert werden.

Um die Wirkung einer schnellen Extraktion zu untersuchen, wurde in Versuch 3 die Seifenlösung nach je 2 stündiger Extraktion abgezapft. In den ersten zwei Extrakten erhielt ich ca. 92,2 %; gegenüber ca. 97 % nach 12 stündiger Extraktion; es scheint, als ob das Chl. langsam aus der Seifenlösung in den Äther diffundiert. In einem Teile meiner Organuntersuchung (einige Nieren) habe ich die erste Extraktion

über 2 Stunden ausgedehnt, die zweite über 12, ich meine hierdurch ca. 95% des Chl.s entfernt zu haben. Da aber diese Extraktionsweise doch eine unzureichende ist, habe ich die Extraktionstechnik auf folgende Weise modifiziert.

Nach der Verseifung wird der noch warme Alkohol quantitativ in einen Scheidetrichter gegossen, das Verseifungskölbchen mit reichlich Äther gewaschen, der ebenfalls in den Scheidetrichter gegossen wird. Nun wird das Ganze tüchtig geschüttelt und erst jetzt ebenso viel Wasser wie das zur Verseifung verbrauchte Volumen Alkohol zugesetzt; der Trichter wird dann ruhig hingestellt und nach ca. 2 Stunden die schwache alkoholische Seifenlösung abgezapft, der Äther gewaschen usw. Die Seifenlösung mit den ersten Portionen des Waschwassers wurde dann von neuem mit Äther geschüttelt und nach 12 Stunden abgezapft, während die ätherischen Auszüge zur Bestimmung des Chl.s vereinigt wurden.

Der zur Extraktion gebrauchte Äther muß so lange gereinigt werden, bis das Waschwasser nicht mehr auf Lackmus alkalisch reagiert. Das Digitonin wird nämlich aus seiner alkoholischen Lösung von Alkali gefällt; z. B. werden 5 ccm 0,12% alkoholische Digitoninlösung, mit 0,05 ccm 2% alkoholischer Kalilauge versetzt, deutlich getrübt. Nicht nur das Alkali, sondern auch die Seifen, die der Äther in wechselnden Mengen enthält, müssen gründlich entfernt werden. Wenn man aber den Äther mit neutralem Wasser reinigt, werden die Seifen — nachdem das überschüssige Alkali schnell entfernt worden ist — hydrolysiert, die Fettsäuren gehen in den Äther über und verunreinigen diesen noch mehr. Wie meine Kontrollversuche gezeigt haben, wird die quantitative Fällung des Chl.s nicht durch freie Fettsäuren beeinflußt; sind sie aber in etwas größeren Mengen vorhanden, so werden sie nicht im heißen Alkohol, mit dem das Residuum der Ätherextrakte ausgekocht werden muß, gelöst, oder sie fallen beim Abkühlen des Alkohols aus und verunreinigen den Niederschlag. Deshalb habe ich den Äther zuerst mit schwach alkalischem Wasser gereinigt, bis alle Seifen entfernt oder doch fast völlig entfernt waren und schließlich den Äther bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Ich habe mich mehrmals überzeugt, daß man keine Verluste an Chl. bei diesem ziemlich langdauernden

Auswaschen des Äthers erleidet, oder die etwaigen Verluste sind so geringfügig gewesen, daß sie keine praktische Rolle spielen.

Daß man mit dieser Technik eine sehr schnelle und vollständige Extraktion des freigewordenen Chl.s erreicht, zeigen folgende 2 Versuche, die ich an verseiften Organextrakten, aus denen das freie Chl. entfernt war, anstellte, sehr deutlich:

Nebenniere.

Extrakt	I	Gehalt an Chl.	216,2 mg
„	II	(nach 12 Std.)	2,1 „
„	III	(„ 24 „)	Spuren
„	IV	(„ 12 „)	0

Niere.

Extrakt	I	Gehalt an Chl.	13,0 mg
„	II	(nach 12 Std.)	0,2 „
„	III	(„ 8 „)	0

Das erste Extrakt enthielt also 99% der gesamten Chl.-Menge.

6. Vorbereitung der Organe zur Extraktion.

Ich habe dieselbe Trocknungstechnik wie Rubow[1]) und Erlandsen[2]) angewandt, weil dadurch die Organe am besten geschont werden, da die Trocknung sehr schnell vor sich geht, und sie vorzügliche Resultate bei der Extraktion gibt. 30 bis 40 g der feuchten Substanz wurden fein zerhackt (mit Messer und Schere oder in einer Fleischmaschine), auf große Glasplatten in einer möglichst dünnen Lage gestrichen und nunmehr entweder bei Zimmertemperatur oder im warmen Luftstrom bei 28 bis 32° getrocknet. Nach der Trocknung, die im Laufe von ca. 10 Stunden beendet war, wurde die getrocknete Masse in einer Kaffeemühle möglichst fein zermahlt und später in einem Mörser pulverisiert, dann weiter im Vakuum über H_2SO_4 2 mal 24 Stunden getrocknet und nochmals pulverisiert. Vor der Extraktion wurden die gröberen Partikelchen, die vorzugsweise aus Bindegewebe bestehen, entfernt. Diese Vorbereitungsmethode ist sicher allen anderen vorzuziehen; vor der viel angewandten Trocknung der Organe oder organischen Flüssigkeit bei höherer Tempe-

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 52, 173.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 71, 1907.

ratur oder auf dem Wasserbade muß dringend abgeraten werden. Wie nachstehende Versuche lehren, wurden nur ca. 50 % des Chl.s und der Chl.-Ester aus einem Organpulver, das in 6 Tagen bei 100° getrocknet war, extrahiert.

Tabelle VI.

Versuch Nr.	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin mg	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin mg	Gebundenes Cholesterin %	Anmerkung
1 A	3,480	20,9	0,60	5,0	0,23	Bei 100° getrocknet zum konstanten Gewicht
2 A	2,658	15,4	0,57	—	—	
1 B	2,107	23,5	1,12	8,4	0,40	Über H_2SO_4 im Vakuum zum konstanten Gewicht
2 B	3,323	37,3	1,14	12,4	0,37	

Nach der Trocknung im Vakuum enthielt das Pulver nur ca. 4 bis 5 % Wasser und hatte eine Konsistenz wie feines Mehl.

Das Blut wurde sofort stark zentrifugiert, nachdem das Fibrin durch Schüttelung ausgeschieden und abfiltriert war, das Serum abgehebert und die Blutkörperchen mit 0,85 %iger NaCl-Lösung gründlich gewaschen (4 mal), der dickflüssige Blutkörperbrei in flache Schalen gegossen und, wie auch das Serum, im warmen Luftstrom getrocknet. Nach ca. 3 ½ Stunden enthielt das Serum nur ca. 7 % Wasser und konnte fein pulverisiert werden; auch die Blutkörperchen verloren in 3 bis 4 Stunden fast ihre ganze Wassermenge.

7. Wahl des Extraktionsmittels.

Tabelle VII.

Extrakt Nr.	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin mg	Gebundenes Cholesterin mg	Extraktionszeit Std.
I	2,108	23,2	8,3	24
II	—	0,3	0,1	12
III	—	—	—	12

Nachdem ich in obenstehenden Versuchen mich überzeugt hatte, daß der Äther schon innerhalb 48 Stunden die Menge des Chl.s und der Chl.-Ester extrahiert, die man überhaupt mit diesem Extraktionsmittel aus dem Pulver entfernen kann, bin ich zur Untersuchung geschritten, ob der Äther das Chl. und die Chl.-Ester quantitativ entfernt oder nicht und im letzten Fall, ob mit Alkohol-Ätherextraktion bessere Resultate erzielt werden, oder ob man ein anderes Extraktionsmittel wählen muß. Die Extraktionsversuche wurden auf folgende Weise angestellt.

Das Organpulver wurde zuerst mit Äther in einem Soxhlet-Apparat in 48 Stunden erschöpft, dann mit Alkohol in einem Becherglas bei 60 bis 70° 5 bis 6 Stunden extrahiert und nunmehr wieder mit Äther in einem Soxhlet behandelt. Der Alkoholrückstand wurde zusammen mit dem der zweiten Ätherextraktion bearbeitet. Zuletzt wurde die größte Menge des Pulvers — nur ein Teil wurde zur Bestimmung des Wassergehaltes verwendet, der übrigens sehr niedrig war — in ein Erlenmeyer-Kölbchen übergeführt und mit 25 ccm 20% NaOH 3 bis 4 Stunden in einem Wasserbade gekocht, nachher quantitativ in eine tarierte Porzellanschale gegossen mit HCl neutralisiert und das Wasser auf dem Wasserbade verjagt.

Der Rückstand wurde gewogen und in einem Mörser pulverisiert. In einem aliquoten Teile des Rückstandes wurde der Wassergehalt bestimmt.

In den drei Rückständen wurde dann die Menge des freien und des gebundenen Chl.s nach der Digitoninmethode bestimmt (auf welche Weise wird später erörtert).

Die Resultate sind in der umstehenden Tabelle VIII zusammengestellt.

Es zeigte sich bei diesen Untersuchungen, daß ein bedeutender Unterschied in der Extraktionsfähigkeit des Äthers für das Chl. und die Chl.-Ester der angewandten Organe (Leber, Herz, Niere, Nebenniere) und des Blutes besteht. Kurz zusammengefaßt kann man sagen, daß der Äther, auf die Organe angewandt, ein gutes, auf die Bestandteile des Blutes, besonders des Serums, dagegen ein sehr schlechtes Extraktionsmittel ist.

Tabelle VIII.

	Trocken-substanz g	Äther-Extrakt		Alkohol-Äther-Extrakt		NaOH-Äther-Extrakt	
		Freies Cholesterin	Gebundenes Cholesterin	Freies Cholesterin	Gebundenes Cholesterin	Freies Cholesterin	Gebundenes Cholesterin
Herz Nr. 3	5,461	26,0	7,3	—	0,3	—	0,3
" " 7	5,863	26,3	8,9	0,8	1,0	—	—
Leber Nr. 5	7,162	50,8	2,5	—	0,5	—	Spur
" " 1	5,089	19,3	27,6	—	0,6	0,5	0,2
Niere Ochs	8,323	37,9	12,4	—	0,2	Spur	Spur
" Hund	6,169	116,3	13,2	1,2	1,2	—	Spur
Nebenniere Ib . . .	2,206	49,8	257,3	—	1,8	—	0,8
Blutkörperch., Ochs	8,675	32,2	1,5	—	0,5	—	1,2
" "	12,777	50,4	0,3	—	0,7	—	2,9
Serum, Ochs I . .	7,171	1,4	11,5	21,1	56,4	16,8	8,7
" " II . .	7,230	1,3	3,9	20,1	51,2	7,3	5,5
" " III . .	8,770	0,5	2,5	7,5	46,7	4,1	3,2
" " IV . .	10,606	0,5	0,6	12,5	50,3	2,3	2,6
" " V . .	9,487	—	—	13,8	30,5	5,4	2,1
" " VI . .	6,910	1,3	1,6	—	—	21,6	21,6

Aus den Organpulvern hat der Äther praktisch genommen das freie Chl. quantitativ entfernt, nur in einem Falle (Herz VII) ca. 97% der totalen Menge dieses Stoffes, weniger gut dagegen die Chl.-Ester; doch sind in den Fällen, wo das Pulver etwas größere Mengen, über 10 mg, dieser Stoffe enthielt, ca. 88,77% ihrer totalen Menge extrahiert worden. Wenn man die großen Fehlerquellen, die der Bestimmung der kleinen Chl.-Estermengen anhaften, welche die Alkohol-Ätherauszüge enthielten, in Betracht zieht, wird man sehen, daß der Chl.-Estergehalt dieser Auszüge im Verhältnis zum großen Unterschied im Gehalt des Ätherauszuges der Organe an diesen Stoffen ein ziemlich konstanter und niedriger ist, und in keiner Relation zur totalen Menge der Chl.-Ester steht. Wenn man nur eine einfache Ätherextraktion anwendet, wird demnach der Fehler bei der Bestimmung des Gehaltes der Organe an Chl.-Estern ein kleiner und daneben auch ein ziemlich konstanter sein.

In Leber V enthielt der Ätherauszug 2,5 mg Chl.-Ester, der Alkoholätherrückstand 0,5 mg, für Leber I dagegen bzw. 27,6 und 0,6 mg. Aus der sehr Chl.-Ester-reichen Nebenniere wurden 257,3 mg gebundenes Chl. mittels einer einfachen Äther-

extraktion entfernt, der Alkoholätherauszug enthielt 1,8 mg, und aus Herz VII wurde mit Äther 8,9 mg gebundenes Chl. extrahiert, im Rückstand des Alkoholätherextraktes wurden 1,2 mg gebundenes Chl. gefunden.

Im großen und ganzen sind die Mengen der Chl.-Ester, die nach der Ätherextraktion noch im Organpulver verblieben sind, so klein, daß sie nur die zweite Dezimale des prozentischen Gehalts des Organes an diesen Stoffen um ca. 2 erhöhen.

Betrachtet man aber die überaus kleinen Quantitäten an Chl. und Chl.-Estern, die eine Alkoholätherextraktion nicht aus dem Organpulver entfernt, so wird man sofort sehen, daß sie keine Rolle spielen können.

Die Alkohol-Ätherextraktion muß als eine gute und zuverlässige Methode angesehen werden; aber schon die einfache Ätherextraktion gibt sehr brauchbare Resultate.

In meinen Untersuchungen über den Gehalt normaler Organe an Chl. und Chl.-Estern habe ich ausschließlich eine einfache Ätherextraktion angewandt, da mein erster Kontrollversuch (Nr. 5) zeigte, daß diese Stoffe mittels Äther allein vollständig extrahiert werden konnten; erst später habe ich die Zahl meiner Extraktionsuntersuchungen vermehrt und dadurch ein etwas von diesem ersten abweichendes Resultat gefunden.

Wie erwähnt, waren die Resultate der Extraktionsversuche der Blutbestandteile, speziell des Serums, völlig von denen der Organe verschieden. Was die Blutkörperchen betrifft, zeigt die Tabelle, daß das freie Chl. vollständig mit Äther entfernt werden kann, von den vorhandenen Chl.-Estern dagegen extrahiert dieser Stoff nur geringe Quantitäten (in einem Falle ca. 50%, im andern nur ca. 9% der totalen Menge); und was noch bemerkenswerter ist, auch nach einer Alkohol-Ätherextraktion bleiben sehr bedeutende Mengen (im zweiten Falle sogar die größte) zurück, die erst durch Zerstörung der Blutkörperchen durch Kochen mit Na-Lauge mit Äther extrahiert werden können.

Noch ungünstiger liegen die Verhältnisse beim Serum. Der Ätherauszug enthält nur ganz verschwindende Mengen des freien und gebundenen Chl.s, eine bedeutende Verbesserung gibt eine Alkohol-Ätherbehandlung, wodurch die größte Menge des Chl.s und der Chl.-Ester entfernt werden; aber auch hier bleiben

noch bedeutende Mengen sowohl des freien wie des gebundenen Chl.s zurück, die erst gewonnen werden können, wenn das Serum mit NaOH behandelt, eingetrocknet und wieder mit Äther extrahiert wird. Im Serum I enthielt der primäre Ätherauszug nur ca. 3,6% der getrockneten Menge des freien Chl.s, im Alkoholätherextrakt fanden sich 53,7% und nach der Zerstörung des Serums mit NaOH wurden noch 42,7% der Totalmenge gewonnen. Von den vorhandenen Chl.-Estern enthielt der Ätherextrakt ca. 15%, der Alkoholätherauszug 73,6%, während 11,5% des Totalgehaltes noch zurückgeblieben waren.

Für das wirklich sehr überraschende Resultat dieser Extraktionsversuche könnte vielleicht die angewandte Trocknungstechnik des Serums verantwortlich gemacht werden. Cohenstein und Michaelis[1]) haben nämlich gezeigt, daß das Fett des Blutes viel unvollständiger mit Äther extrahiert wird, wenn man vor der Extraktion während 15 bis 24 Stunden einen Strom von Sauerstoff oder Luft durch das Blut leitet. Mansfeld[2]) hat dies bestätigt und gefunden, daß dieses „Verschwinden" von Fett nicht nachweisbar ist, wenn man die Dormeyersche Methode zur Fettbestimmung benutzt, und ferner meint Berczeller[3]) gezeigt zu haben, daß die Fette, die nicht mit Äther aus dem mit Luft durchströmten Blut entfernt werden können, dagegen alkoholextrahierbar sind.

Es ist von vornherein unwahrscheinlich, daß meine Trocknungstechnik irgendeine bedeutende Veränderung in der Bindung des Blutfettes im Sinne Cohensteins und Michaelis' herbeiführen konnte, da die Trocknung sehr schnell vor sich ging (sie war in ca. 3 1/2 Stunden beendigt) und der Luftstrom nur auf die Oberfläche des Serums wirkte. Um nun zu zeigen, daß dieses Moment jedenfalls keine größere Rolle spielen konnte, trocknete ich eine Portion Serum im Vakuum bei 37° und extrahierte mit Äther. Das Resultat (Serum VI) war völlig dasselbe wie in den Fällen, wo die Sera im Luftstrom getrocknet waren, auch hier enthielt der Ätherrückstand nur ganz unbedeutende Mengen des freien Chl.s und der Chl.-Ester.

---

1) Arch. f. d. ges. Physiol. 65, 423, 1897

2) Arch. f. d. ges. Physiol. 108, 481.

3) l. c. S. 92.

Außerdem habe ich auch das von Fränkel[1]) so sehr empfohlene Verfahren zur Serumtrocknung mit wasserfreiem Na_2SO_4 geprüft.

Zu 50 g Serum (VI) wurden 35 g wasserfreies Na_2SO_4 in kleinen Portionen gesetzt, nach 2stündigem Stehen im Vakuum hatte das Serum noch eine Konsistenz wie dünnflüssiger Brei; dann wurden weiter 7 g des Salzes zugesetzt und nach einiger Zeit bildete das Ganze eine steinharte Masse, die sich leicht pulverisieren ließ. Das Pulver wurde noch 2 mal 24 Stunden im Vakuum über H_2SO_4 hingestellt und dann in einem „Soxhlet" mit Äther extrahiert.

Aus dem Pulver, das 91,5 g wog, entfernte der Äther:

nach		3 mal	24	Stunden	2,1 mg	freies	Cholesterin,
„	weiteren	2 mal	24	„	1,6 „	„	„
„	„	2 mal	24	„	0,3 „	„	„
					4,0 mg.		

Die Extraktion wurde dann (nach 7 mal 24 Stunden) ein gestellt, die gesammelten Extrakte enthielten 13,0 mg gebundenes Chl. Das Pulver wurde, wie früher beschrieben, durch Kochen mit 20% Na-Lauge zerstört und weiter nach Eintrocknung mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand enthielt 8,1 mg freies und 1,9 mg gebundenes Chl.

Im ganzen enthielt das Serum (3,89 g) 0,31% freies und 0,38% gebundenes Chl., eine Probe desselben Serums im Vakuum getrocknet 0,33% freies ud 0,35% gebundenes Chl.

Eine einfache Ätherextraktion gibt also eine größere Ausbeute an Chl. und Chl.-Estern auf ein nach Fränkel mit Na_2SO_4 getrocknetes Serum angewandt, als auf ein Serum, das nach der von mir gebrauchten Methode behandelt worden ist; wie mein Versuch aber zeigt, ist die Ausbeute bei ersterer bei weitem nicht quantitativ und schlechter für das freie als für das gebundene Chl.

Man wird vielleicht schon bemerkt haben, daß gar keine gesetzmäßige Relation besteht zwischen den Mengen äther- und alkoholäther-extrahierbarem Chl. und Chl.-Ester und denen, die noch im Serum festgehalten werden und nur nach dessen Destruktion entfernt werden können. Es ist in Anbetracht

---

[1]) Fränkel und Elfer, diese Zeitschr. 28, 330, 1910.

dieser Verhältnisse sehr wahrscheinlich, daß die Fränkelsche Trocknungstechnik auch eine sehr variierende Ausbeute geben wird.

Nach meinen Untersuchungen ist es wahrscheinlich, das das Chl. und die Chl.-Ester im Serum auf andere Weise als in den Organen gebunden sind und daß sie im Serum selbst in einer mehr oder weniger lockeren Bindung mit anderen Stoffen kreisen. Es ist vorläufig unmöglich, sich mehr als hypothetisch über die Natur dieser Stoffe auszusprechen, vieles spricht aber dafür, daß sie den Eiweißstoffen angehören. Bang[1]) hat nämlich gefunden, daß die Chl.-Ester in einer Peritonealflüssigkeit chemisch an Euglobulin gebunden waren, und nach mündlicher Mitteilung von Prof. Bang kann ich berichten, daß es ihm nicht gelang, sie mit Äther allein zu extrahieren. Wolff[2]) hatte eine ganz entsprechende Beobachtung gemacht.

Daß eine kombinierte Alkohol-Ätherextraktion eine soviel größere Ausbeute an Chl. und Chl.-Ester gibt als die einfache Ätherextraktion, läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß der Alkohol das Chl. aus seiner Verbindung mit den Eiweißstoffen mehr oder weniger vollständig löst; dieselbe Erklärung dürfte auch für das bessere Resultat der Fränkelschen Trocknungsmethode gelten.

Ist die Extraktion mit Alkohol (5 Stunden) und Äther (2 mal 24 Stunden) beendigt, so werden die Rückstände dieser Auszüge vereinigt, und um sie zu reinigen, im absoluten Äther gelöst und filtriert usw. Die Extrakte müssen natürlich mit Vorsicht behandelt und nie höherer Temperatur ausgesetzt werden. Während der Ätherextraktion kann ich empfehlen, 10 bis 15 ccm 96 $^0/_0$igen Alkohol in den Soxhlet-Kolben zu gießen; wenn der Äther verdampft ist, bleibt der Alkohol zurück und beschützt das Extrakt gegen die hohe Temperatur der Wasserdämpfe.

Eine Trocknung der Extrakte bei 100°, wie Bianca-Bienenfeld[3]), Herrmann und Neumann[4]) empfehlen, ist, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht, unbrauchbar.

---

[1]) Die Chemie und Biochemie der Lipoide. S. 25. Wiesbaden 1911.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 208, 1904.

[3]) Diese Zeitschr. 43, 245, 1912.

[4]) Diese Zeitschr. 43, 47, 1912.

Extrakt I bei 100° getrocknet:
0,76 % freies Chl.,
„ II bei 70° getrocknet:
1,03 % freies Chl.,
„ III im Vakuum über H_2SO_4 bei Zimmertemperatur:
1,12 % freies Chl.

Wenn die Menge des durch Digitonin fällbaren freien Chls so bedeutend durch die Trocknung bei höherer Temperatur herabgesetzt wird, ist es anzunehmen, daß der Rest nach der Verseifung als gebundenes Chl. bestimmt wird.

8. Die Bestimmung des freien und gebundenen Chls in Organextrakten.

Der Gehalt des Alkohol-Ätherextraktes an freiem Chl. wird nun nach den Angaben Windaus' bestimmt; ich möchte nur ein paar Worte hinzufügen.

Das Extrakt muß mehrmals mit reichlichen Mengen Alkohol (für ca. 0,8 g Extrakt ca. 45 ccm Alkohol) ausgekocht werden, und um zu sehen, ob alles Chl. entfernt ist, muß man es zuletzt mit einigen Kubikzentimetern Alkohol auskochen, zu dieser Probe einige Tropfen Digitoninlösung setzen; bildet sich (ev. erst nach 12 bis 24 Stunden) ein Niederschlag, muß das Extrakt wieder mit Alkohol behandelt werden.

Um eine quantitative Fällung des Chls zu erreichen, muß man die Digitoninlösung in reichlicher Menge zusetzen, der Digitoninüberschuß muß praktisch gesehen 2 ‰ oder größer sein; ist zu wenig Digitoninlösung zugesetzt, was erst nach der Bestimmung des als Dchl. ausgefällten Chl. berechnet werden kann, muß man zum Filtrat der Dchl.-Fällung, das etwas eingeengt werden kann, noch mehr Digitoninlösung hinzufügen. Meiner Erfahrung nach wird man einen genügend großen Digitoninüberschuß erhalten, wenn man berechnet, daß die getrockneten Blutkörperchen ca. 0,6 %, die Niere 2,5 %, die Leber 1,5 % und das Herz 1 % freies Chl. enthalten (auf normale Organe berechnet).

Die Bestimmung der Chl.-Ester im Filtrat der Digitonin-Chl.-Fällung. Nach Windaus wird das Filtrat eingeengt, mit Wasser verdünnt und im Scheidetrichter mit Äther geschüttelt, dabei sollen Fett, Chl.-Ester und die übrigen

Lipoide in den Äther übergehen. Der in Alkohol nicht lösliche Teil des Alkohol-Ätherauszuges wird in Alkoholäther gelöst und mit diesem zweiten Ätherauszug vereinigt.

Da man aber die Chl.-Ester nur sehr unvollständig aus stark wasserhaltigem Alkohol im Scheidetrichter mit Äther extrahieren kann, was folgende Versuche beweisen, habe ich mich genötigt gesehen, die Windaussche Technik zu ändern.

Für diese Versuche wurden Extrakte aus demselben Organ (Leber) angewandt.

In Extrakt I wurde im Äther 3,3 mg geb. Chl. gefunden
" " II " " " 8,2 " " " "

Der stark wasserhaltige Alkohol wurde dann abgedampft, der Rückstand in kochendem Alkohol gelöst, dieser quantitativ sofort in den Scheidetrichter gegossen und Äther zugesetzt. Dann wurde die Mischung leicht geschüttelt und erst jetzt ebensoviel Wasser als das gebrauchte Volumen Alkohol zugesetzt.

Der Äther des Extrakts I enthielt 27,3 mg geb. Chl.
" " " " II " 19,3 " " "

In den beiden Ätherauszügen fanden sich also 30,6 und 27,6 mg geb. Chl., auf Trockensubstanz des Organs berechnet im ersten Versuch 0,54%, im zweiten 0,54% geb. Chl.

Die Extraktion der Chl.-Ester aus dem Filtrat der Dchl.-Fällung geschieht also auf folgende Weise:

Das Filtrat wird eingeengt (bis auf 10 bis 15 ccm), quantitativ in einen Scheidetrichter gegossen und reichlich Äther zu dem noch heißen Alkohol gesetzt. Nach einer leichten Schüttelung wird Wasser (10 bis 15 ccm) zugesetzt und der Trichter ruhig stehen gelassen bis zur Klärung der Flüssigkeiten. Nach dieser Zeit wird der wässerige Alkohol abgezapft, der Äther einigemal mit wenig Wasser gewaschen, um das ausgefällte Digitonin zu entfernen und die abgezapfte alkoholische Lösung nochmals mit Äther im Scheidetrichter geschüttelt. Die ätherischen Auszüge werden vereinigt, der Äther verjagt und der Rückstand auf dem Wasserbade und mit Durchleiten eines kräftigen Luftstromes schnell getrocknet. Nach der Trocknung muß man den Rückstand mit absolutem Äther reinigen (etwas Digitonin wird nämlich oft mitgeschleppt).

Zur Bestimmung des an Fettsäuren in Esterform gebundenen Chl. (der Chl.-Estern) wird der Rückstand mit

Na-Alkoholat (5 %) in der Hitze verseift. Während der Ölsäureester völlig in 4 Stunden gespalten wurde, zeigte es sich, daß diese Verseifungszeit nicht ausreichte, um alle Chl.-Ester des zweiten Ätherextraktes zu spalten. Zum Beispiel wurde

nach 4 stündiger Verseifung 10,1 mg Chl. gefunden
" weiteren 4 Std. " 1,6 " " "
" " 4 " " 0 " " "

Erst nach 8 Stunden war die Verseifung vollständig, ich habe deshalb immer mindestens 8 Stunden, gewöhnlich 10 bis 12 Stunden verseift und mich öfters überzeugt, daß die Verseifung dann komplett war.

Die Ester, die noch nach 4 stündiger Verseifung ungespalten sind, sind wahrscheinlich die Palmitin- und Stearinsäureester.

Ist die Verseifung vollendet, wird der heiße Alkohol in einen Scheidetrichter gegossen, der Verseifungskolben mit viel Äther gewaschen, der gleich dem warmen Alkohol zugesetzt wird, das Ganze leicht geschüttelt, dann der Alkohol mit Wasser verdünnt (zu ca. 50 %) und das Ganze bis zur Klärung der Flüssigkeit stehen gelassen.

Der wässerige Alkohol wird abgezapft und nochmals mit Äther extrahiert. Der Äther wird auf die vorher geschilderte Weise gewaschen.

Tabelle IX.

Versuch Nr.	Organ	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin mg	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin mg	Gebundenes Cholesterin %	Total-Cholesterin %
1 A	Niere (Ochs)	3,323	37,9	1,14	12,4	0,37	1,51
1 B	" "	2,107	23,5	1,12	8,4	0,40	1,52
2 A	Herz (Lamm)	5,059	26,5	0,52	18,1	0,36	0,88
2 B	" "	2,700	12,6	0,52	7,6	0,32	0,84
3 A[1])[2])	Niere (Ochs)	8,402	153,7	1,83	9,8	0,12	1,95
3 B	" "	9,541	174,7	1,83	10,5	0,11	1,94

[1]) In den ersten 4 Versuchen wurde einfach mit Äther extrahiert, während das Organpulver im 5. und 6. Versuch (3 A und 3 B) einer Alkohol-Ätherbehandlung unterworfen wurde.

[2]) Versuche 3 sind zugleich Beweise dafür, daß keine fermentative, autolytische Spaltung der Chl.-Ester in der Niere zu finden ist, die 24 Stunden (Versuche 3 B) bei Zimmertemperatur, ca. 17 bis 18°, aufbewahrt worden ist.

Die vereinigten Ätherauszüge enthalten das gebundene Chl., das nach der Digitoninmethode quantitativ bestimmt wird.

Zur weiteren Kontrolle der Digitoninmethode habe ich vorstehende Doppelbestimmungen (Tabelle IX) ausgeführt.

Mit den von mir angegebenen Modifikationen gibt die Digitoninmethode zur quantitativen Bestimmung des Chl.s und der Chl.-Ester also vorzügliche Resultate. Der Versuchsfehler liegt in der zweiten Dezimale, ist für das freie Chl. am kleinsten ca. 0,02, für die Bestimmung der Ester natürlich etwa doppelt so groß, weil diese in normalen Organen (ausgenommen Nebenniere) in geringer Menge vorkommen und erst nach vielen Manipulationen, Extraktionen, Verseifungen usw. bestimmt werden können.

Mit der Digitoninmethode hat Windaus die feste Grundlage geschaffen, auf der unsere Kenntnisse zu der übrigens unbekannten Physiologie des Chl.s und der Chl.-Ester weiter aufgebaut werden müssen; sie ist allen andern so weit überlegen, daß diese nur historisches Interesse haben, und sie wird immer als Standardmethode benützt werden können.

Zusammenfassung.

1. Zum Vorbehandeln der Organe ist die von Rubow, Erlandsen und mir benützte Trocknungsmethode im Luftstrom bei ca 32° anzuwenden.

2. Zur Extraktion muß eine Alkohol-Ätherextraktion gebraucht werden.

3. Das freie sowie das gebundene Chl. ist mit Rücksicht auf die Bedeutung des Digitoninüberschusses zu bestimmen.

4. Vom Filtrat der Fällung für freies Chl. muß man die von mir angegebene Extraktionstechnik benützen, um eine schnelle und quantitative Extraktion des Chl.-Esters zu erreichen.

5. Die Chl.-Ester müssen mindesten 8, am besten 12 Stunden mit Natriumalkoholat in der Hitze verseift werden.

6. Das freigemachte Chl. ist aus der Verseifungsflüssigkeit mit Äther im Scheidetrichter auf die von mir angegebene Weise zu extrahieren.

7. Der Äther, der zu dieser Extraktion benützt wird, muß völlig von Alkali befreit werden vor der Bestimmung des gebundenen Chl.s nach der Digitoninmethode.

Beiträge zur physiologischen Chemie des Cholesterins und der Cholesterinester.

II. Der Gehalt normaler Organe an Cholesterin und Cholesterinestern.

Von

Th. E. Hess Thaysen.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund und dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 19. März 1914.)

Im vorhergehenden habe ich die Windausche Digitoninmethode einer kritischen Prüfung unterworfen und bin zu dem Resultat gekommen, daß sie eine sehr zuverlässige ist zur quantitativen Bestimmung des Chl.s und der Chl.-Ester, wenn die von mir angegebene Versuchsordnung befolgt wird. Auch auf kleine Substanzmengen (3 bis 4 g Trockensubstanz) angewandt, gibt sie vorzügliche Resultate.

Ich erinnere an dieser Stelle noch daran, daß das Blut eine besondere Extraktionstechnik erfordert, indem die Chl.-Ester der Blutkörperchen und sowohl das freie wie das gebundene Chl. des Serums nicht durch eine kräftige Alkohol-Ätherbehandlung quantitativ entfernt werden, die völlig für die Organe ausreichte. Um die letzten Mengen der Chl.-Ester der Blutkörperchen und das freie und gebundene Chl. des Serums zu entfernen, muß das Ausgangsmaterial mit Na-Lauge zerstört und nachträglich mit Äther im Soxhlet extrahiert werden. Ferner habe ich gezeigt, daß die Fränkelsche Salztrocknungstechnik, auf das Serum angewandt, fehlerhafte Resultate geben muß, da die Entfernung des Chl.s und der Chl.-Ester keine quantitative ist.

Weiter habe ich nachgewiesen, daß die von Kumagawa und Suto angegebene Methode zur quantitativen Bestimmung des Chl.s nebst anderen unverseifbaren Substanzen völlig wertlose Resultate gibt.

Ich gehe demnach zum zweiten Teil meiner Arbeit, die

Untersuchungen über den Gehalt einiger normaler Organe und des Blutes an Chl. und Chl.-Ester mit der Digitoninmethode ausgeführt, über.

Die Niere.

Es wurden größtenteils Nieren von gesunden Hunden untersucht, in einem Falle wurden die Nieren eines Pferdes und und ferner ein paar Schafnieren angewandt. Nachdem die Kapsel und die Calyces entfernt waren, wurden die Nieren auf die früher besprochene Weise behandelt. Rechte und linke Niere wurde jede für sich untersucht.

Tabelle X.

Versuch Nr.	Rechte Niere				Linke Niere			
	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt %	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt %
1	5,253	1,33	0,05	1,38	5,287	0,89	0,54	1,43
2	2,905	1,33	0,24	1,57	2,931	1,26	0,26	1,52
3	8,714	1,25	Spuren	1,25	6,951	1,24	Spuren	1,24
4	8,614	1,00	0,20	1,20	10,182	1,04	0,11	1,15
5	6,451	1,41	0,01	1,42	4,745	1,33	0,21	1,54
6	6,440	1,25	0,17	1,42	2,571	1,26	0,17	1,43
7	3,620	1,22	0,29	1,51	3,942	1,26	0,01	1,27
8	8,835	1,56	0,01	1,57	6,447	1,26	0,16	1,42
9	4,375	1,41	0,22	1,63	5,724	1,43	0,15	1,58
10	6,159	1,60	0,04	1,64	5,790	1,60	0,06	1,66
11	9,508	1,14	0,21	1,35	8,691	1,13	0,24	1,37
Mittelzahl für Hundenieren		1,307	0,133	1,433		1,219	0,179	1,398

Nieren des Versuches 1 bis 9 stammen von Hunden.
" " " 10 " " einem Lamm.
" " " 11 " " " Pferd.

Aus der obenstehenden Tabelle geht nun folgendes hervor:

Das freie Chl. wurde in 9 der 11 Fälle ungefähr in gleicher Menge in der rechten wie in der linken Niere gefunden. Nur in 2 Fällen (Nr. 1 und 8) ist ein so bedeutender Unterschied vorhanden, daß diese Versuche zu dem Schluß zwingen, daß man aus dem Gehalt einer Niere an freiem Chl. nicht auf den der anderen schließen kann; die rechte Niere enthält in Versuch 1 fast 50% mehr als die linke.

Viel größere Variationen finden wir jedoch im Gehalt der Nieren an gebundenem Chl. Nur in 4 Fällen war der Gehalt

der gleiche wie in den gegenseitigen Nieren. Im Versuch 1 enthält die rechte Niere 0,05%, die linke 0,54%, und umgekehrt waren im Versuch 7 0,29% bzw. 0,01% zu finden.

Bezüglich des Totalgehaltes an Chl. weisen die Nieren nur geringe Schwankungen auf trotz der großen Variationen des Chl.-Esters, was darin begründet ist, daß diese letzteren in den meisten Fällen in viel geringeren Mengen vorhanden sind als das weniger variierende freie Chl., das deshalb den Wert des Totalgehalts bestimmt.

Ein kompensierendes Auftreten von seiten des freien und des gebundenen Chl. findet nicht statt; für eine solche Annahme spricht nur Versuch 1, während es aus allen anderen, besonders aus Versuch 7, deutlich hervorgeht, daß keine Kompensation im Auftreten dieser Stoffe zu finden ist.

In 5 Versuchen wurden ferner die Cortex und die Pyramidensubstanz der Nieren für sich untersucht.

Tabelle XI.

Versuch Nr.	Rechter Cortex				Linker Cortex			
	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Total-Cholesterin %	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Total-Cholesterin %
3	7,131	1,28	Spuren	1,28	5,070	1,30	Spuren	1,30
4	6,889	1,18	0,17	1,35	7,888	1,18	0,12	1,30
8	5,835	1,69	Spuren	1,69	3,861	1,17	0,20	1,37
9	2,813	1,41	0,34	1,75	3,211	2,00	0,26	2,26
11	4,856	1,47	0,24	1,71	4,255	1,44	0,16	1,60
Durchschnitt		1,406	0,150	1,556		1,418	0,148	1,566

Versuch Nr.	Rechte Pyramide				Linke Pyramide			
	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Total-Cholesterin %	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Total-Cholesterin %
3	1,583	1,20	—	1,20	1,881	1,06	Spuren	1,06
4	1,726	0,26	0,34	0,60	2,294	0,55	0,10	0,65
8	3,000	1,30	0,02	1,32	2,586	1,39	0,10	1,49
9	1,562	1,42	Spuren	1,42	2,513	0,77	—	0,77
11	4,652	0,79	0,18	0,97	4,436	0,84	0,31	1,15
Durchschnitt		0,994	0,108	1,102		0,922	0,102	1,024

Aus der Tabelle XI geht erstens hervor, daß keine Relation im Gehalt des Cortex und der Pyramide derselben Niere an freies Chl. nachzuweisen ist. Sie können gleichgroße Mengen enthalten, z. B. Versuch 3 und 9, aber im Versuch 4 (rechte Niere) fand ich 4 bis 5mal soviel im Cortex wie in der Pyramide, während umgekehrt die Pyramide der linken Niere im Versuch 8 etwas mehr Chl. als der Cortex enthielt. Im Gehalt dieser Organteile an gebundenem Chl. treffen wir den vorgehenden Untersuchungen entsprechend viel größere Unterschiede. Die rechte Pyramide im Versuch 3 enthielt nur Spuren dieser Stoffe, der Cortex dagegen 0,34 %.

Ganz entsprechende Verhältnisse finden wir, wenn wir die Zahlen der gegenseitigen Cortices und Pyramiden vergleichen. In drei (3, 4, 11) dieser Versuche enthält der rechte und linke Cortex gleichgroße Mengen freies Chl., in den übrigen Fällen treffen wir ziemlich große Verschiedenheiten.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich nun folgendes: Die angeführten Zahlen für den Gehalt an freiem und gebundenem Chl. einer Niere werden demnach von je zwei überaus verschiedenen Faktoren bestimmt. Mit Rücksicht auf den Gehalt an Chl. und Chl.-Estern verhalten sich die Cortices und Pyramiden jeder Niere als zwei ganz verschiedene Organe. Auch zwischen den gegenseitigen Cortices und Pyramiden findet sich keine Relation im Gehalt an Chl. und Chl.-Ester.

Wird demnach ein Nierenpaar untersucht, so sind die gefundenen Werte von vier ganz verschiedenen zusammengesetzt, unten denen gar keine Relation besteht und die untereinander viel mehr differieren werden als die Werte, die man bei Untersuchung einzelner Nieren erhält. Es ist zu erwarten, daß man noch viel größere Unterschiede im Chl.- und Chl.-Estergehalt finden wird zwischen der linken und rechten Niere, als ich in diesen wenigen Versuchen gefunden habe. Einen Beweis hierfür habe ich nach Abschluß meiner ersten Untersuchungen erhalten.

In einem Nierenpaar fand ich 1,82 % freies und 0,23 % gebundenes Chl., Totalgehalt an Chl. war 2,05 %. Der Gehalt an freiem Chl. einer der Nieren dieses Paares muß also mindestens 1,82 % gewesen sein; enthielt die eine Niere eine ge-

ringere, mußte die andere eine entsprechend größere Menge enthalten. Die obere Grenze der in der Tabelle angegebenen Variationsbreite (0,89 °/₀ bis 1,60 °/₀) ist also von 1,60 °/₀ auf 1,82 °/₀ für freies Chl. und auf 2,02 °/₀ statt 1,66 °/₀ für Totalgehalt an Chl. zu erhöhen.

In der Literatur liegen nur wenige mit der Digitoninmethode ausgeführten Untersuchungen über den Gehalt normaler Nieren an Chl. und Chl.-Ester vor.

Windaus[1]) fand in 2 Paar Menschennieren:

I. 0,22 °/₀ freies, 0,03 °/₀ gebundenes Chl.
II. 0,26 °/₀ „ 0,012 °/₀ „ „

auf feuchte Substanz berechnet.

Eine größere Untersuchungsreihe haben Ellis und Gardner[2]) an gepaarten Kaninchennieren angestellt, sie fanden in fünf Untersuchungen, daß das freie Chl. von 0,157 bis 0,355 °/₀, das gebundene von 0,007 bis 0,110 °/₀ und der Totalgehalt von 0,160 bis 0,360 °/₀ variierten.

Die Versuche zeigen noch größere Schwankungen als ich gefunden habe, sie können meine Befunde[3]) über die große Variationen des Chls oder Chl.-Ester nur bestätigen. Die stark schwankenden Zahlen für den Totalgehalt zeigen, daß Ellis und Gardner auch keine Relation zwischen den gefundenen Mengen von freiem und gebundenem Chl. nachweisen konnten.

Die Nebennieren[4]).

Es wurden vier Nebennieren von Pferden, vier von Ochsen untersucht.

In den Nebennieren von Pferden findet man, wie Tabelle XII A zeigt, ziemlich große Unterschiede im Gehalt an freien Chl.; dem Resultat der Nierenuntersuchungen entsprechend, ist das gebundene Chl. aber in noch wechselnderer Menge vorhanden. Der Gehalt variiert von 0,73 bis 13,64 °/₀.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 170, 1910.

[2]) Proc. Roy. Soc. 85, 385, 1912.

[3]) Auf feuchte Substanz berechnet, finde ich in Nierenpaaren für das freie Chl. eine Variation von 0,23 bis 0,43 °/₀, für das gebundene von Spuren bis 0,06 °/₀.

[4]) Sämtliche Nebennieren wurden mikroskopisch genau untersucht, sie erwiesen sich alle durchaus normal.

Daß die Zahlen für das Gesamt-Chl. noch größere Unterschiede aufweisen müssen als die der Nieren, trotzdem die Variationen im gebundenen Chl. hier mindestens ebenso groß waren, hängt ja mit den so bedeutend größeren Mengen zusammen, in denen die Chl.-Ester in den Nebennieren vorhanden sind. Ich habe bis jetzt kein Organ untersucht, in dem nur annäherungsweise eine ebenso große Menge Chl.-Ester als in Nebenniere I des Pferdes vorhanden waren.

Tabelle XII A.
Nebennieren von Pferden.

Versuch Nr.	Trocken-substanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt an Cholesterin %
1	6,000	2,36	13,64	16,00
2	11,284	2,41	6,68	9,09
3	5,535	1,89	1,42	3,31
4	4,902	1,46	0,73	2,19

Versuch Nr.	Linke Nebenniere				Rechte Nebenniere			
	Trocken-substanz g	Freies Chole-sterin %	Gebunde-nes Chole-sterin %	Total-gehalt %	Trocken-substanz g	Freies Chole-sterin %	Gebunde-nes Chole-sterin %	Totalgeh. an Chole-sterin %
1	3,472	2,26	11,66	13,92	2,527	2,50	16,35	18,85
2	5,237	2,26	6,39	8,65	6,047	2,54	6,94	9,48

Die zweite Tabelle umfaßt einige Untersuchungen über den Chl.- und Chl.-Estergehalt der rechten und linken Nebenniere (Pferd); sie zeigt, daß der Gehalt dieser Stoffe in ziemlich hohen Graden innerhalb der beiden Nebennieren desselben Tieres differieren kann, ein ganz ähnliches Resultat, wie ich es bei den Nierenuntersuchungen erhielt.

Der Gehalt an freiem Chl. ist in den Ochsennebennieren etwas geringer als in denjenigen von Pferden und zeigt wie diese ziemlich große Schwankungen. Bemerkenswert ist aber, daß das gebundene Chl. in viel geringerer Menge in den Nebennieren von Ochsen vorzukommen scheint. Der Mittelwert aus diesen vier Untersuchungen ist 0,640%, für die Nebennieren von Pferden dagegen 5,618%.

Tabelle XII B.

Nebennieren von Ochsen (Alkohol-Ätherextraktion).

Versuch Nr.	Trocken-substanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt an Cholesterin %
1	4,52	1,93	0,32	2,25
2	4,081	1,80	0,34	2,14
3	2,335	1,25	1,40	2,65
4	1,813	1,65	0,50	2,15

Übrigens weist auch beim Ochsen die Menge der Chl.-Ester ganz bedeutende Unterschiede bei verschiedenen Tieren auf (von 0,32 bis 1,40%). Der Totalgehalt an freiem und gebundenem Chl. ist in diesen vier Versuchen ein ziemlich konstanter gewesen; mit den recht großen Schwankungen in den Mengen an freiem und gebundenem Chl. vor Auge, wird man aber keinen Aufschluß über das Verhältnis des Gesamt-Chl.s geben können.

Meine Versuche beweisen, daß die Behauptung Kawamuras[1]), daß die Nebennieren von Ochsen keine Chl.-Ester enthalten, unrichtig ist.

Es liegen nur wenige Untersuchungen über den Chl.- und Chl.-Estergehalt der Nebennieren vor. Ipsen[2]) fand in der Rinde einer Pferdenebenniere 25,4% Gesamt-Chl. Lapwood[3]) hat in der Nebenniere eines Schafes 0,14% freies und 0,17% gebundenes Chl. nachgewiesen und in einem weiteren Versuch mit Nebennieren eines Lammes 0,53% freies und 0,06% gebundenes Chl. — alles auf die feuchte Substanz berechnet. Picard[4]) gibt an, daß die normale Nebenniere von Hunden 0,008% freies und 0,048% gebundenes Chl. enthält — Durchschnitt von drei Analysen.

Daß die angeführten Untersuchungen einen nur annäherungsweise richtigen Mittelgehalt der Nebennieren verschiedenener Tierspezies an Chl. und Chl.-Estern angeben können, ist, mit Bezug auf die großen individuellen Variationen, die ich gefunden habe, ganz undenkbar. Die Zahlen Pi-

[1]) Die Cholesterinesterverfettung. Jena 1911, S. 79.

[2]) Habilitationsschrift. Kopenhagen 1912, S. 89.

[3]) l. c. S. 93.

[4]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1913.

cards haben auch keinen größeren Wert, da er mit dem winzigen Material der Nebennieren von Hunden arbeitete, von denen sogar einige Stückchen zur mikroskopischen Untersuchung verbraucht wurden.

Die Leber.

Zu diesen Untersuchungen wurden Lebern von Schafen benutzt.

Tabelle XIII.

Leber.

Versuch Nr.	Angewandte Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt an Cholesterin %
1	10,715	0,37	0,54	0,91
2	12,178	0,60	0,30	0,90
3	11,995	0,51	0,30	0,81
4	6,158	0,63	0,09	0,72
5	7,162	0,71	0,04	0,75

Versuch Nr.	Linker Leberlappen				Rechter Leberlappen			
	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt %	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt %
1	5,626	0,38	0,54	0,92	5,089	0,36	0,54	0,90
2	6,587	0,60	0,29	0,89	5,591	0,60	0,31	0,91
3	5,828	0,51	0,30	0,81	6,167	0,51	0,30	0,81

Die Tabelle zeigt, daß die Leber mit Rücksicht auf den Chl.- und Chl.-Estergehalt sich ganz wie die Nieren und Nebennieren verhält. Auch in diesem Organ finden wir von Tier zu Tier große Schwankungen, und wie aus der Tabelle deutlich hervorgeht, scheint das freie und das gebundene Chl. in voneinander ganz unabhängigen Mengen vorzukommen. Wenn die Zahlen für das Gesamt-Chl. auch relativ wenig untereinander differieren, wird man daraus nicht mit Recht schließen können, daß das gesamte Chl. in verschiedenen Lebern in annähernd gleicher Menge vorkommt, wenn so bedeutende Unterschiede im Gehalt des freien und gebundenen Chl.s verschiedener Organe existieren und keine gesetzmäßige Relation zwischen den Mengen dieser Stoffe zu finden ist.

Aus der zweiten Hälfte der Tabelle geht hervor, daß das Chl. und die Chl.-Ester in gleicher Menge im rechten und linken Leberlappen vorkommen, was mit Noël-Patons[1]) Behauptung, daß die Lipoide in der Leber diffus verteilt sind, gut übereinstimmt.

Über den Chl.-Gehalt der Leber liegen ziemlich viele ältere Untersuchungen vor [siehe Kausch[2]), Doyon und Dufour[3]) und andere].

Die einzigen Untersuchungen, die bis jetzt mit der Digitoninmethode ausgeführt worden sind, rühren von Ellis und Gardner[4]) her. In den Lebern von 3 Kaninchen, die alle mit dem gleichen Futter gefüttert waren, fanden sie folgende Zahlen, auf feuchte Substanz berechnet:

Freies Chl.	Gebundenes Chl.	Total-Chl.
0,199 %	0,057 %	0,256 %
0,219 %	0,114 %	0,332 %
0,277 %	0,054 %	0,331 %

Aus diesen Versuchen ziehen die Verfasser den Schluß, daß das Total-Chl. in gleichgroßer Menge in den Lebern von Kaninchen, die mit demselben Futter gefüttert worden sind, zu finden ist; ein Schluß, der wenigstens nicht durch die angeführten drei Versuche begründet werden kann. Ellis' und Gardners Untersuchungen stimmen im Gegenteil vorzüglich mit den meinigen überein; sie finden große Variationen im Gehalt der Leber an Chl.-Estern und keine Relation zwischen den Mengen des gebundenen und freien Chl.s; aus den angeführten Versuchen können Ellis und Gardner nur denselben Schluß ziehen wie ich aus den meinigen, besonders weil der Totalgehalt in ihren Versuchen ebenso stark als in den meinigen variiert.

Das Herz[5]).

In den sechs ersten Versuchen wurden Herzen von Lämmern, im letzten Versuch dasjenige eines Hundes angewandt.

---

[1]) Journ. of Physiol. 19, 167, 1895/96.

[2]) Inaug.-Diss. Straßburg 1891.

[3]) Compt. rend. Soc. Biol. 3, 487, 1896.

[4]) Proc. Roy. Soc. 85, 385, 1912.

[5]) Nur die Muskulatur der Ventrikel wurde gebraucht, und vorzüglich die der linken. Das subpericardiale Fett wurde mitsamt den oberflächlichsten Schichten der Muskulatur mittels eines scharfen Rasiermessers entfernt. Alles sichtbare intermuskuläre Fett wurde danach entfernt.

Tabelle XIV.

Das Herz.

Versuchs-Nr.	Trocken-substanz g	Freies Cholesterin $^0/_0$	Gebundenes Cholesterin $^0/_0$	Totalinhalt $^0/_0$
1	5,156	0,36	0,15	0,51
2	5,368	0,41	0,12	0,53
3	5,461	0,48	0,13	0,61
4	5,099	0,44	0,11	0,55
5	5,708	0,44	0,13	0,55
6	5,059	0,52	0,36	0,88
7 [1]	5,863	0,45	0,15	0,60
Durchschnitt für Nr. 1 bis 7		0,438	0,167	0,605

Aus der Tabelle XIV geht folgendes hervor. Es scheint, als ob der Gehalt der Herzen an Chl. und Chl.-Estern viel geringeren Schwankungen unterworfen ist als die der übrigen Organe. Doch variiert das freie Chl. von 0,36 bis 0,57 $^0/_0$, das gebundene von 0,11 bis 0,36 $^0/_0$, und das Total-Chl. von 0,51 bis 0,88 $^0/_0$.

Soweit mir bekannt, liegen noch keine anderen mit der Digitoninmethode ausgeführten Untersuchungen vor.

Das Blut.

Die Blutkörperchen [2]).

Aus der Tabelle XV geht hervor, daß das freie Chl. in fast konstanter Menge in allen Fällen vorhanden war. Da schon 4 bis 6 Untersuchungen anderer Organe völlig genügten, um die großen individuellen Variationen im Gehalt an freiem Chl. festzustellen, halte ich mich für berechtigt, zu behaupten, daß der Chl.-Gehalt der Blutkörperchen der Ochsen ein konstanter oder nur ein sehr wenig variierender ist. Den größten Unterschied, den ich in 5 Versuchen fand (0,37

[1]) Hundeherz.

[2]) In allen Versuchen wurden die Blutkörperchen mehrmals mit 0,85 $^0/_0$iger NaCl-Lösung gewaschen und nach starker Zentrifugierung die Flüssigkeit abgehebert. Die Mengen NaCl, die nach Trocknung der gewaschenen Blutkörper zurückgeblieben sind, sind, wie eine einfache Überlegung zeigt, so unbedeutend, daß sie beim Berechnen des prozentischen Chl.-Gehalts der Blutkörper keine Rolle spielen.

bis 0,41 %) ist nur unwesentlich größer als ein etwaiger Versuchsfehler.

Tabelle XV.
Cholesteringehalt der Blutkörperchen.

Versuchs-Nr.	Trockene Substanz g	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Total-inhalt %	Tierart
1	5,480	0,41	Nicht bestimmt	—	Ochse
2	9,138	0,39	—	—	—
3	10,660	0,39	—	—	—
4	8,675	0,37	0,04	0,41	—
5	12,777	0,39	0,03	0,42	—
Durchschnitt . . .		0,39	—	—	—
1	11,200	0,35	Nicht bestimmt	—	Pferd
2	6,405	0,36	—	—	—
1	5,163	0,49	Nicht bestimmt	—	Hund
2	4,779	0,47	—	—	—

Außerdem habe ich den Chl.-Gehalt der Blutkörperchen zweier Pferde bestimmt, ich fand 0,35 und 0,36 %, sie enthalten also annähernd ebensoviel Chl. wie die des Ochsens. Die Blutkörperchen zweier Hunde enthielten 0,49 und 0,47 %, also bedeutend mehr freies Chl. als die der anderen untersuchten Tiere. Aus diesen Versuchen muß man den folgenden Schluß ziehen: Der Gehalt der Blutkörperchen an freiem Chl. ist innerhalb verschiedener Individuen derselben Tierspezies ein konstanter, innerhalb verschiedener Tierarten ein variierender.

Wie früher gezeigt, kann der Gehalt der Blutkörperchen der Ochsen an Chl.-Estern erst nach ihrer Vernichtung mit NaOH bestimmt werden, während eine sehr kräftige Alkohol-Ätherbehandlung völlig unzureichend ist. Die Menge der Ester, die ich in zwei Versuchen fand, war eine so kleine, daß ich auf weitere Untersuchungen verzichtete.

Die Blutkörperchen des Ochsens enthalten zwar Chl.-Ester, aber wie es scheint nur in sehr geringer Menge. Wacker und Hueck[1]) haben den Chl.-Gehalt der Pferdeblutkörperchen nach Zentrifugierung und Waschen mit

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 74, 1913.

physiologischer NaCl-Lösung bestimmt. Sie fanden 0,36% auf Trockensubstanz berechnet, was mit meinen Untersuchungen übereinstimmt.

Das Serum.

Ich möchte an dieser Stelle nochmals hervorheben, daß das freie und gebundene Chl. des Serums erst nach dessen Zerstörung mit NaOH sich durch eine Ätherextraktion entfernen läßt, während eine sehr energische Alkohol-Ätherbehandlung sehr bedeutende Mengen (in meinen Versuchen bis 42,7% des freien und 11,5% des gebundenen Chl.s) zurückläßt.

Tabelle XVI.

Totalgehalt des freien und gebundenen Chl.s.

Versuchs-Nr.[1])	Trockensubstanz g	Freies Cholesterin mg	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin mg	Gebundenes Cholesterin %	Totalgehalt %
1	7,171	39,3	0,55	76,6	1,07	1,62
2	7,230	28,7	0,40	60,6	0,84	1,24
3	8,770	12,1	0,14	52,4	0,60	0,74
4	10,606	15,9	0,15	53,5	0,50	0,65
5	9,487	19,2	0,20	32,6	0,34	0,54
6	6,910	22,0	0,32	23,2	0,34	0,66
Durchschnitt . .			0,293		0,615	0,908

Der Gehalt des Serums (Ochse) an freiem Chl. ist viel geringer als der der untersuchten Organe und noch größeren Schwankungen als in diesen unterworfen; so variierte er in meinen Versuchen von 0,14% bis 0,55%. Die meisten Zahlen liegen weit von der Mittelzahl 0,293%, nur Serum II enthält eine entsprechende Menge. Außerdem zeigen die Tabellen XV und XVI, daß der Chl.-Gehalt der Blutkörperchen völlig von dem des Serums unabhängig ist.

Die Chl.-Ester sind im Serum in ziemlich reichlicher Menge vorhanden, durchschnittlich 0,615%; wie in den Organen sind sie auch sehr bedeutenden Schwankungen unterworfen. Wie in diesen finden wir auch im Serum keine Relation zwischen den Mengen des freien und gebundenen Chl.s, welch letzteres durchschnittlich in größeren Mengen vorkommt als ersteres. Der Totalgehalt an Chl. ist in den großen Variationen des freien

[1]) Die Versuchsnummer von Serum und Blutkörperchen gehören zu demselben Blut.

und gebundenen Chl.s ein sehr wechselnder, die größte Menge ist ca. 3 mal größer als die kleinste.

Über den Chl.-Gehalt des Totalblutes und des Serums liegen mehrere mit der Digitoninmethode ausgeführte Untersuchungen vor. Da die meisten Verfasser aber entweder die Fränkelsche Trocknungstechnik [z. B. Ellis, Fraser und Gardner[1])] oder eine Alkoholfällung des feuchten Blutes mit nachfolgender Ätherextraktion des Niederschlages mit dem Rückstand des stark verdünnten Alkohols angewandt haben [z. B. Wacker und Hueck[2]), Hermann und Neumann[3]), Bianca, Bienenfeld[4]), Cytronberg[5]), Schulz[6]), Kauders[7]) u. a.], kann man allen diesen Untersuchungen keinen größeren Wert beimessen. Denn wie ich gezeigt habe, gibt die Fränkelsche Technik keine quantitative Ausbeute, und ferner ist selbst eine so kräftige Alkohol-Ätherbehandlung, der ich das Serum unterwarf, völlig unzureichend, um alles Chl. und die Chl.-Ester zu extrahieren, in einem Falle blieben ca. 42 % des freien und ca. 12,5 % des gebundenen Chl.s zurück. Das Chl. und die Chl.-Ester des Serums können nur nach dessen Zerstörung mit NaOH und nachträglicher Ätherextraktion quantitativ bestimmt werden.

Die älteren Untersuchungen Hepners[8]) über den Chl.-Gehalt der Hundeblutkörperchen können nicht als entscheidend angesehen werden, da er eine sehr mangelhafte Technik angewandt hat. Er fand, daß der Chl.-Gehalt nicht nur bei verschiedenen Tieren variierte, sondern auch beim selben Tier von Tag zu Tag wechselte, was aber nicht mit meinen Befunden übereinstimmt.

Die Blutkörper der Ochsen enthalten nach meinen Untersuchungen zwar auch Chl.-Ester, aber scheinbar in ganz ge-

---

[1]) Fraser und Gardner, Proc. Roy. Soc., Serie B, 82, 230, 1910. — Ellis und Gardner, Proc. Roy. Soc., Serie B, 85, 385, 1912.

[2]) l. c. S. 125.

[3]) l. c. S. 97.

[4]) l. c. S. 110.

[5]) Diese Zeitschr. 44, 281, 1912.

[6]) Diese Zeitschr. 42, 255, 1912.

[7]) Diese Zeitschr. 1913.

[8]) Arch. f. d. ges. Physiol. 73, 595, 1898

ringer Menge. Cytronberg[1]) hat einen weit größeren Gehalt der Pferdeblutkörperchen an Chl.-Estern gefunden, er hat aber, wie früher bemerkt, mit einer mangelhaften Technik gearbeitet und den Chl.-Estergehalt der Blutkörperchen nicht direkt bestimmt, sondern indirekt berechnet aus dem Gehalt des Totalblutes und Serums an diesen Stoffen, weshalb seine Untersuchungen die Frage über den Chl.-Estergehalt der Blutkörperchen nicht entscheiden können.

Als Hauptresultat meiner Organuntersuchungen steht fest, daß das Chl. und die Chl.-Ester im selben Organ verschiedener Tiere derselben Spezies in außerordentlich variierenden Mengen vorkommen, und daß kein regelmäßiger Zusammenhang zwischen dem Gehalt eines Organs an Chl. und Chl.-Estern zu finden ist. Die größte Variation habe ich bei den Estern gefunden, die in mehreren Organen nur als Spuren vorhanden waren, etwas weniger schwankte das freie Chl. Außerdem zeigen meine Untersuchungen, daß der Chl.- und Chl.-Estergehalt in gepaarten Organen ein sehr verschiedener sein kann; aus dem Gehalt des einen Organs an diesen Stoffen wird man also nicht auf den des gegenseitigen schließen können.

Ich bin überzeugt, daß meine Untersuchungen ein korrektes Bild der physiologischen Verhältnisse geben. Die angewendeten Organe stammen alle von Tieren, die unter tierärztlicher Kontrolle gestanden haben und keine pathologischen Veränderungen, weder bei der Untersuchung noch beim Tode, gezeigt haben. Es ist auch kaum denkbar, daß der Ernährungszustand der Tiere einem bedeutenden Wechsel unterworfen war, da die Pferde und Ochsen zum Fleischexport geschlachtet wurden. Die Hunde, deren Nieren ich gebraucht habe, befanden sich alle auf der hiesigen Veterinärhochschule und wurden alle mit ungefähr demselben Futter gefüttert. Ob auch Altersvariationen im Gehalt der Organe an Chl. und Chl.-Ester vorkommen, ist nicht untersucht worden.

Man könnte wohl annehmen, daß die großen Variationen, denen die Chl.-Ester unterworfen sind, jedenfalls zum Teil durch eine mehr oder weniger fortgeschrittene fermentative autolytische Spaltung hervorgerufen waren. Dagegen spricht erstens, daß ich die Organe bereits 3 bis 4 Stunden nach

[1]) l. c. S. 127.

dem Tode der Tiere in Arbeit nahm, zweitens die große Resistenzfähigkeit der Ester.

Přibram[1]) hat nachgewiesen, daß die Chl.-Ester (Oleat) jedenfalls sehr wenig von Ricinuslipase gespalten werden. Nach 48 Stunden fand er „zwar den ungespalteten Chl.-Ester, jedoch nicht quantitativ, wieder". Genauere Zahlen gibt Přibram nicht an. Wenn man bedenkt, mit welchen Verlusten die quantitative Bestimmung der Chl.-Ester verbunden war zur Zeit, da Přibram seine Versuche veröffentlichte, wird man zugeben, daß der Beweis für die Spaltbarkeit der Chl.-Ester durch Ricinuslipase nicht erbracht worden ist.

Der Versuch S. 113 beweist aber, daß eine autolytische fermentative Spaltung der Chl.-Ester jedenfalls nicht in der Niere nachweisbar ist, die 24 Stunden bei Zimmertemperatur (17 bis 18°) gelegen hat.

Ob Fermente in anderen Organen vorkommen, ist nicht nachgewiesen. Schulz[2]) meint, daß die Pferdeleber imstande ist, die Chl.-Ester des Blutes zu spalten; da er aber eine unzuverlässige Methode zur quantitativen Extraktion des Chl.s im Blute (Hoppe-Seylers Alkoholfällung mit nachträglicher Ätherextraktion [Digitoninmethode]) gebraucht hat, wird man seinen Untersuchungen keinen entscheidenden Wert beimessen können. Während Schulz verneint, daß das Blut ein esterspaltendes Ferment enthält, meint Cytronberg[3]), ein solches „Cholesterase" in den roten Blutkörperchen nachgewiesen zu haben. Cytronberg hat fast dieselbe Extraktionstechnik wie Schulz gebraucht (Alkoholfällung oder Essigätherextraktion des Rückstandes und der Fällung).

Daß die Angaben der Autoren doch so sehr variieren können, wird leicht verständlich, wenn man bedenkt, daß beide eine unzureichende Extraktion gebraucht haben.

Es ist kaum anzunehmen, daß die Chl.-Ester des von mir verarbeiteten Serums einer fermentativen Spaltung ausgesetzt waren, da das Blut immer vor der Verarbeitung (ca. 3 Stunden nach dem Tode des Tieres) bei niedriger Temperatur aufbewahrt worden ist.

Anscheinend herrscht in der Physiologie die Ansicht, daß

[1]) Diese Zeitschr. 1, 413, 1906.

[2]) l. c. S. 127.

[3]) l. c. S. 127.

der Chl.-Gehalt der Organe ein ziemlich konstanter ist. So behauptet Kausch[1]), daß die Leber des Menschen fast konstant 2 $^0/_0$ Chl., auf Trockensubstanz berechnet, enthält. Abderhalden[2]) begnügt sich mit 1 bis 2 Untersuchungen, um den Chl.-Gehalt des Blutes verschiedener Tiere festzustellen. Ellis, Fraser und Gardner[3]) behaupten, daß der Totalgehalt der Leber und des Blutes an Chl. bei Tieren, die mit demselben Futter gefüttert worden sind, fast konstant ist, und Přibram[4]) hat nur 2 Kontrollversuche gemacht über den Chl.-Gehalt des Blutes, bevor er seine Fütterungsversuche anstellte. Kauders[5]) ist auch der Meinung, daß der totale Chl.-Gehalt des Blutes ein konstanter ist. Wacker und Hueck heben hervor, daß der Chl.-Gehalt des Blutes unter gleichen Verhältnissen auch einigermaßen konstant ist[6]), und erklären ihre früheren, mit dieser Anschauung nicht übereinstimmenden Resultate für unrichtig wegen mangelnder Fertigkeit in der Ausführung der Digitoninmethode.

Auch Picard[7]) geht bei seinen Versuchen davon aus, daß nicht nur der Gehalt des Blutes an Chl., sondern auch der Chl.-Gehalt der Nebennieren (Hund) ein ziemlich konstanter ist.

Ich muß demgegenüber auf Grund meiner Untersuchungen folgendes behaupten.

Mit Ausnahme der roten Blutkörperchen haben alle die untersuchten Organe sowie das Serum sehr bedeutende Schwankungen im Chl.- und Chl.-Estergehalt gezeigt; eine Erklärung dieser physiologischen Variationen zu geben, ist zurzeit nicht möglich.

---

[1]) l. c. S. 123.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 25, 1898.
[3]) l. c. S. 123.
[4]) l. c. S. 129.
[5]) l. c. S. 127.
[6]) Leider geben W. und H. keine Belege für diese Anschauung.
[7]) l. c. S. 121.

Über die Bedeutung des Cholesterins für die Vorgänge bei der pathologischen Verfettung.

Von

Ernst v. Czyhlarz und Adolf Fuchs.

(Eingegangen am 21. März 1914.)

In bezug auf die Auffassung der pathologischen Fettbildung haben sich in letzterer Zeit mehrfache Wandlungen vollzogen. Die alte Lehre Virchows, die in der scharfen Trennung der Begriffe Fettinfiltration und Fettdegeneration gipfelte, wurde in erster Linie durch die zahlreichen Untersuchungen Rosenfelds erschüttert. Rosenfeld[1]) leugnet jeden chemischen Unterschied zwischen Depot- und Degenerationsfett. Wenn er z. B. mit Hammelfett gemästete Hunde mit Phosphor vergiftete, fand er das Fett der Phosphorleber identisch mit dem als Depotfett angesetzten Hammelfette. Seine Untersuchungsergebnisse fanden auch von anderer Seite her vielfache Bestätigung. Erst in neuester Zeit hat — nachdem allerdings schon früher Heffter und Kraus sich in ähnlichem Sinne geäußert hatten — insofern eine Art Wiedergeburt der Virchowschen Ansicht stattgefunden, als viele Autoren der Annahme zuneigen, daß doch ein chemischer Unterschied zwischen dem degenerativen Fett und dem Depotfett bestehe. Der Anstoß dazu ging von der pathologischen Histologie aus. Die Histologen wandten ihr Interesse vielfach den in pathologisch verfetteten Organen reichlich auftretenden doppelbrechenden Substanzen zu. Diese doppelbrechenden Substanzen sollen nach Adami und Aschoff[2]) sowie nach Panzer[3]) und

[1]) Vgl. die Literatur bei Rosenfeld.
[2]) Proc. Roy. Soc. 78.
[3]) Zeitschr. f. phys. Chem. 48 und 54.

nach Pringsheim[1]) wenigstens zum Teil aus Cholesterinestern bestehen, während Craven Moore[2]) und White[3]) das Vorkommen echter Cholesterinester bestreiten und behaupten, daß lockere Additionsverbindungen zwischen Cholesterin und Fettsäuren vorliegen. Klotz[4]) nimmt an, daß es sich gar nicht um Cholesterinverbindungen, vielmehr um Seifen handle. Immerhin fand Windaus[5]) mit seiner Digitoninmethode bei Nierenuntersuchungen, daß der Gehalt an doppelbrechenden Tropfen und an quantitativ bestimmbaren Cholesterinestern parallel gehen, derart, daß man den letzteren in der Tat eine wichtige Rolle bei der Bildung doppelbrechender Substanzen in verfetteten Geweben zuschreiben darf[6]). Wir legten uns nunmehr die Frage vor, ob die von Aschoff und seinen Schülern auf Grund morphologischer Beobachtungen formulierte Gegenüberstellung der Cholesterinesterverfettung und der Glycerinverfettung auch vom chemischen Gesichtspunkte aus gerechtfertigt erscheint.

Wir versuchten daher durch Untersuchung einer größeren Reihe verfetteter Organproben darüber ins klare zu kommen, ob es Fälle von pathologischer Verfettung gibt, wo das Cholesterin in auffallender Weise in den Vordergrund tritt und seiner Menge nach den anderen Bestandteilen des Fettes gegenüber derart vermehrt erscheint, daß man in der Tat berechtigt ist, von einer „Cholesterinsteatose“ zu sprechen. Den objektivsten Maßstab schien uns die Feststellung der Relation des Cholesterins zur Gesamtmenge der im Fette enthaltenen hochmolekularen wasserunlöslichen Fettsäuren zu bieten, wie sie nach dem bekannten Verfahren von Kumagawa und Suto in Kombination mit einer colorimetrischen Bestimmung des Cholesterins mit großer Genauigkeit ermittelt werden kann.

Wir gingen so wie Kumagawa-Suto vor, indem wir immer je 20 g des betreffenden Gewebes verarbeiteten. Durch

[1]) Diese Zeitschr. 15.
[2]) Med. Chron. 1907.
[3]) Med. Chron. 1908.
[4]) Med. Research 20.
[5]) Zeitschr. f. phys. Chem. 65.
[6]) Vgl. die einschlägige Literatur bei O. v. Fürth, Probleme der physiol. u. pathol. Chem. 2, 413 bis 415, 1913.

Kochen mit Natronlauge wird verseift, dann durch Zusatz von verdünnter Salzsäure stark angesäuert, dann durch Äther 2mal extrahiert. Dieser Ätherextrakt verdampft, der Rückstand in Petroläther aufgelöst. Durch Zusatz einer $^n/_5$ absolut alkoholischen Kalilauge werden die Fettsäuren wieder verseift und von dem zugesetzten Wasser diese Seifen aufgenommen, während das Cholesterin in der darüber befindlichen Petrolätherschichte zurückbleibt. Die Petrolätherfraktion wird dann verdunstet, dieser Rückstand wird in 20 ccm Chloroform aufgelöst und der Cholesteringehalt nach der von E. Schulze und Grigaut ausgearbeiteten colorimetrischen Methode[1]) bestimmt. Zu diesem Zwecke werden genau 10 ccm dieser Chloroformlösung mit 2 ccm Essigsäureanhydrid und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt, umgeschüttelt und die Flüssigkeit einige Minuten stehen gelassen. Man erhält so eine schön sattgrün gefärbte Flüssigkeit, die zum colorimetrischen Vergleich mit einer ebenso behandelten Cholesterinstandardlösung (10 ccm) vortrefflich geeignet ist. Die Standardlösung wird durch Auflösen von 0,05 Cholesterin in 100 ccm reinstem Chloroform erhalten. Wir benutzten ein Colorimeter von Dubosq (Pellin in Paris).

Die wässerige Seifenfraktion wird mit Salzsäure übersättigt und der sich absetzende Fettsäureniederschlag durch Filtration abgetrennt. Man spült die auf dem Filter zurückbleibenden Fettsäuren zuerst mit Wasser ab, dann werden sie durch Äther, indem sie sich lösen, von dem Filter in ein gewogenes Wägeglas gespült, der Äther wird verdampft, der Rückstand getrocknet und gewogen.

Versuch 1.

Normale Leber, 20 g.

Cholesterin . . . 0,048,
Fettsäure . . . 0,268,

also auf 100 Teile Fettsäure 18 Teile Cholesterin.

. . .

Versuch 2.

Normale Leber, 20 g.

Cholesterin . . . 0,067,
Fettsäure . . . 0,919,

also auf 100 Teile Fettsäure 8 Teile Cholesterin.

. . .

[1]) Vgl. E. v. Czyhlarz, A. Fuchs und O. v. Fürth, diese Zeitschrift 49, 120ff., 1913.

Versuch 3.

Normale Leber, 20 g.

Cholesterin . . . 0,046,
Fettsäure . . . 0,470,

also auf 100 Teile Fettsäure 10 Teile Cholesterin.

Versuch 4.

Leber eines sehr fetten Individuums. (An Pneumonie verstorben, 20 g.)

Cholesterin . . . 0,058,
Fettsäure . . . 0,942,

also auf 100 Teile Fettsäure 6 Teile Cholesterin.

Versuch 5.

Leber eines an Diphtherie verstorbenen Kindes, 20 g.

Cholesterin . . . 0,041,
Fettsäure . . . 0,795,

also auf 100 Teile Fettsäure 5 Teile Cholesterin.

Versuch 6.

Leber eines an Diphtherie verstorbenen Kindes, 20 g.

Cholesterin . . . 0,038,
Fettsäure . . . 0,314,

also auf 100 Teile Fettsäure 12 Teile Cholesterin.

Versuch 7.

Leber eines an Scarlatina verstorbenen Kindes, 20 g.

Cholesterin . . . 0,022,
Fettsäure . . . 0,463,

also auf 100 Teile Fettsäure 5 Teile Cholesterin.

Versuch 8.

Leber eines an Scarlatina verstorbenen Kindes, 20 g.

Cholesterin . . . 0,031,
Fettsäure . . . 0,395,

also auf 100 Teile Fettsäure 8 Teile Cholesterin.

Versuch 9.

Typische alkoholische Cirrhose, 20 g.

Cholesterin . . . 0,068,
Fettsäure . . . 0,225,

also auf 100 Teile Fettsäure 30 Teile Cholesterin.

Versuch 10.

Typische alkoholische Cirrhose, 20 g.

Cholesterin . . . 0,084,
Fettsäure . . . 0,923,

also auf 100 Teile Fettsäure 9 Teile Cholesterin.

Versuch 11.

Typische alkoholische Cirrhose. 20 g Lebergewebe.

Cholesterin . . . 0,086,
Fettsäure . . . 1,121,

also auf 100 Teile Fettsäure 8 Teile Cholesterin.

Versuch 12.

Phosphorleber. Kaninchen nach Injektion von 0,05 g Phosphor. (20 g.)

Cholesterin . . . 0,041,
Fettsäure . . . 1,023,

also auf 100 Teile Fettsäure 4 Teile Cholesterin.

Versuch 16.

Normale Niere, 20 g.

Cholesterin . . . 0,028,
Fettsäure . . . 0,134,

also auf 100 Teile Fettsäure 21 Teile Cholesterin.

Versuch 17.

Normale Niere, 20 g.

Cholesterin . . . 0,023,
Fettsäure . . . 0,14,

also auf 100 Teile Fettsäure 16 Teile Cholesterin.

Versuch 18.

Große weiße Niere, 20 g.

Cholesterin . . . 0,03,
Fettsäure . . . 0,31,

also auf 100 Teile Fettsäure 10 Teile Cholesterin.

Versuch 19.

Niere eines Falles von Lepsis, 20 g.

Cholesterin . . . 0,041,
Fettsäure . . . 0,213,

also auf 100 Teile Fettsäure 19 Teile Cholesterin.

Bei keiner der untersuchten Proben pathologisch verfetteter Lebern und Nieren ergab sich sonach eine zweifellos außerhalb der normalen Schwankungsbreite gelegene Verschiebung der Relation zwischen Cholesterin und hohen Fettsäuren.

Zu ähnlichen Resultaten ist kürzlich Jastrowitz gelangt, dessen Arbeit erst nach Abschluß der unserigen erschienen ist. Er experimentierte an vergifteten Tieren und fand bei Vergiftung mit Phosphor und Oleum pulegii keine Ändernng der Fettzusammensetzung und nur bei Nitrobenzolvergiftung und

Arsenwasserstoffvergiftung eine unbedeutende Cholesterinvermehrung.

Daß unter Umständen (Scharlach z. B. bei Cholesterinüberschwemmung des Organismus) eine erhöhte Cholesterinanhäufung im Fettgewebe und in verfetteten Organen stattfinden könne, soll nicht bezweifelt werden. Eine Scheidung der echten Verfettungsvorgänge in die Typen der „Cholesterinesterverfettung" und „Glycerinesterverfettung" erscheint aber zumindest vorläufig vom Standpunkte des Chemikers aus noch nicht ausreichend begründet.

Die vorstehenden Untersuchungen sind in dem der Leitung des Prof. O. v. Fürth unterstehenden chemischen Laboratorium des Wiener physiologischen Universitätsinstituts zur Ausführung gelangt.

Zur Kenntnis der Carboxylase.

Von

W. Palladin, N. Gromoff und N. N. Monteverde.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität St. Petersburg.)

(Eingegangen am 23. März 1914.)

Mit 3 Figuren im Text.

C. Neuberg und seine Mitarbeiter[1]) haben durch ihre Untersuchungen nachgewiesen, daß die Hefen ein besonderes Ferment, die Carboxylase, enthalten, das die Brenztraubensäure in Acetaldehyd und Kohlensäure spaltet. Dieses Ferment findet sich außerdem nicht nur bei höheren Pflanzen[2]), sondern auch bei Tieren[3]). Die Arbeiten von Neuberg enthalten viele Angaben, die zugunsten der Annahme sprechen, daß die Brenztraubensäure ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung darstellt. In der vorliegenden Arbeit haben wir uns die Aufgabe gestellt, weitere Eigenschaften der Carboxylase kennen zu lernen. Als Objekte dienten verschiedene Präparate abgetöteter Hefe. Die Kohlensäure wurde mit Hilfe Pettenkoferscher Röhren bestimmt. Behufs Sterilisierung wurde Toluol hinzugefügt. Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur (18 bis 20°) unternommen.

Die Versuche 1, 3 bis 8, 10 bis 11, 23 bis 26 wurden von N. Gromoff, die Versuche 2, 12 bis 22, 27 bis 30 von N. N. Monteverde und der Versuch 9 von D. Sabinin ausgeführt.

---

[1]) C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Monogr. Jena 1913. Hier findet sich eine Zusammenstellung der gesamten Literatur.

[2]) W. Zaleski, diese Zeitschr. 47, 189, 1912; 48, 175, 1913.

[3]) Tschernorutzky, diese Zeitschr. 43, 486, 1912.

I. Vergärung freier Brenztraubensäure und ihrer Kalisalze.

Versuch 1.

Drei Portionen zu je 3 g Zymin, das Glykogen enthielt. 1. 50 ccm Wasser, 2. 50 ccm 1 %ige Brenztraubensäure, 3. 50 ccm 1 %ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure.

Dauer des Versuchs	Selbstgärung		Säure		Salz	
	Gesamtmenge des CO_2	CO_2 in 1 Std.	Gesamtmenge des CO_2	CO_2 in 1 Std.	Gesamtmenge des CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	g	g	g	g	g	g
3	38,6	12,8	12,3	4,1	53,6	17,8
4	16,7	4,2	1,7	0,4	36,9	9,2
$5^1/_2$	11,4	2,0	1,7	0,3	56,2	10,2
12	7,0	0,5	0,8	0,07	21,0	1,7
$24^1/_2$	73,7	—	16,5	—	167,7	—

Die Resultate des Versuchs sind in der Fig. 1 dargestellt.

Versuch 2.

Drei Portionen zu je 6 g glykogenarmen Zymins: 1. 100 ccm Wasser, 2. 100 ccm 1 %ige Brenztraubensäure, 3. 100 ccm 1 %ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure.

Dauer des Versuchs	Selbstgärung		Säure		Dauer des Versuchs	Salz	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.		CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	Std.	mg	mg
23	10,7	0,5	6,1	0,3	$1^1/_2$	71,7	47,8
Beide Portionen wurden durch Ätzkali bis zu schwach alkalischer Reaktion neutralisiert					2	78,9	39,5
					2	35,5	18,0
					$2^1/_2$	34,0	13,6
					20	89,6	4,5
22	11,1	0,5	13,0	0,6	$16^1/_2$	35,9	2,4
						345,6	—

Die freie Brenztraubensäure wirkt demnach auf das Zymin als ein die Selbstgärung aufhaltendes Gift. Die Neutralisierung durch Ätzkali nach 23 Stunden bringt nur wenig Besserung. Das Kalisalz der Brenztraubensäure ergibt im Vergleich mit der Selbstgärung eine große Steigerung der ausgeschiedenen Kohlensäuremenge. Ganz besonders groß ist der Unterschied bei dem glykogenarmen Zymin.

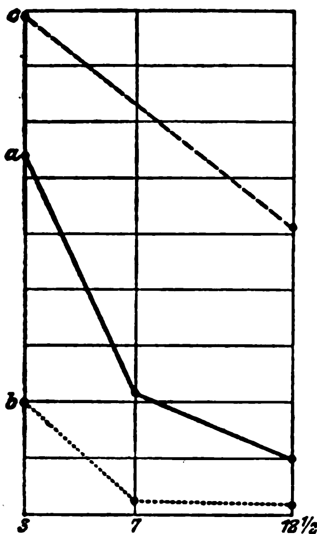


Fig. 1. Ausscheidung von Kohlensäure durch das Zymin: a) in Wasser (Selbstgärung), b) in Brenztraubensäurelösung, c) in einer Lösung des Kalisalzes der Brenztraubensäure.

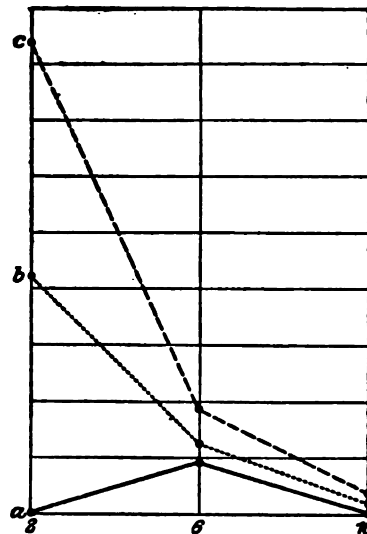


Fig. 2. Ausscheidung von Kohlensäure durch Zymin: a) in einer Lösung von neutralem Phosphatgemisch, b) in einer Lösung von brenztraubensaurem Kali, c) in einer Lösung von brenztraubensaurem Kali und neutralem Phosphatgemisch.

Versuch 3.

Drei Portionen zu je 50 ccm 1%iger freier Brenztraubensäure. 1. 3 g glykogenarmes Zymin, 2. 3 g Zymin mit Glykogen, 3. 3 g Hefanol.

Im Verlauf von 18½ Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

Zymin ohne Glykogen	6,1
Zymin mit Glykogen	2,6
Hefanol	7,9

Die Fähigkeit, freie Brenztraubensäure mit verschiedenen Trockenpräparaten der Hefe zu vergären, ist demnach sehr gering, worauf auch Neuberg und Karczag[1]) und Harden[2]) hingewiesen haben.

[1]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 36, 66, 1911.
[2]) A. Harden, Bioch. Journ. 7, 214, 1913.

II. Einfluß von Phosphaten.

Versuch 4.

Drei Portionen zu je 3 g Zymin, das Glykogen enthielt. 1. 50 ccm 1 % iges Kaliumphosphatgemisch, 2. 50 ccm durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure, 3. 50 ccm einer Lösung, enthaltend 1 % durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure und 1 % Kaliumphosphatgemisch.

Zur Gewinnung von neutralem phosphorsaurem Kali wurden K_2HPO_4 und KH_2PO_4 in äquimolekularen Quantitäten genommen: 0,98 % K_2HPO_4 und 0,76 % KH_2PO_4. Um eine 1 % ige Lösung zu erhalten, wurden 2,45 g K_2HPO_4 und 1,57 g KH_2PO_4 abgewogen und in 425 ccm Wasser aufgelöst[1]).

Dauer des Versuchs	Phosphorsaures Kali		Brenztraubensäure		Phosphorsaures Kali u. Brenztraubensäure	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	mg	mg
2	6,1	3,0	57,9	28,9	109,8	54,9
4	35,1	8,7	41,3	10,3	56,2	14,0
4	14,0	3,5	14,9	3,7	21,9	5,5
15	6,1	0,4	15,8	1,0	2,5	1,6
25	61,3	—	129,9	—	190,4	—

Die reichlichere Bildung von CO_2 in Gegenwart anorganischer Puffersysteme geben Neuberg und Rosenthal ausführlich an[2]).

Die Resultate des Versuchs sind in der Fig. 2 dargestellt.

Versuch 5.

3 g Zymin in 50 ccm einer 1 % igen, durch Ätzkali neutralisierten Brenztraubensäure und 1 % Phosphatgemisch.

Dauer des Versuchs	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg
2	90,4	45,2
4	92,4	23,0
4	45,7	11,4
16	47,4	2,9
26	275,7	—

---

[1]) N. Iwanoff, Trav. Soc. Nat. St. Petersbourg 42, 1911.

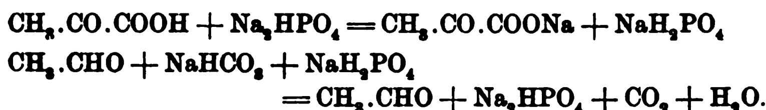
[2]) C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. 51, 183, 1912

Versuch 6.

Drei Portionen Hefanol zu je 3 g. 1. 50 ccm 1 %iges brenztraubensaures Kali, 2. 50 ccm 1 %iges brenztraubensaures Kali und 0,5 % K_2HPO_4, 3. 50 ccm 1 %iges brenztraubensaures Kali und 1 % K_2HPO_4.

Dauer des Versuchs	$CH_3.CO.COOK$		$CH_3.CO.COOK + 0{,}5\,\%\ K_2HPO_4$		$CH_3.CO.COOK + 1\,\%\ K_2HPO_4$	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	mg	mg
2	67,6	33,8	93,1	46,5	93,5	46,7
4	24,6	6,1	41,3	10,3	50,0	12,5
20	41,3	2,0	45,6	2,3	48,3	2,4
26	133,5	—	180,0	—	191,8	—

Harden[1]) erklärt den Überschuß an Kohlensäure bei dem Vergären freier Brenztraubensäure bei Gegenwart von Na_2HPO_4 in folgender Weise:



$$CH_3.CO.COOH + Na_2HPO_4 = CH_3.CO.COONa + NaH_2PO_4$$

$$CH_3.CHO + NaHCO_3 + NaH_2PO_4 = CH_3.CHO + Na_2HPO_4 + CO_2 + H_2O.$$

Bei dem Vergären des Kalisalzes der Brenztraubensäure bei Gegenwart von K_2HPO_4 läßt sich der Überschuß an Kohlensäure auf diese Weise aber nicht erklären.

III. Wirkung der Saccharose.

Versuch 7.

Zwei Portionen zu je 3 g Zymin, das Glykogen enthielt. 1. 50 ccm 10 %ige Saccharose, 2. 50 ccm 10 %ige Saccharose und 1 % durch Ätzalkali neutralisierte Brenztraubensäure.

Dauer des Versuchs	10 %ige Saccharose		10 %ige Saccharose und brenztraubensaures Kali	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg
2	2,2	1,1	75,1	37,5
4	31,2	8,5	52,7	13,2
4	19,3	4,8	33,4	8,3
16	45,7	2,8	98,4	6,1
26	98,4	—	259,6	—

[1]) A. Harden, l. c.

Versuch 8.

Vier Portionen zu je 3 g Hefanol. 1. 50 ccm Wasser, 2. 50 ccm 10%ige Saccharose, 3. 50 ccm 1%ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure, 4. 50 ccm 10%ige Saccharose und 1% brenztraubensaures Kali.

Dauer des Versuchs	Wasser		Saccharose		Brenztraubensaures Kali		Saccharose u. brenztraubensaures Kali	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
2	8,8	4,4	18,0	9,0	51,8	25,9	99,3	49,6
4	26,3	6,5	64,1	16,0	39,1	9,7	71,1	17,7
20	13,2	0,6	83,4	4,1	49,2	2,4	84,7	4,2
26	48,3	—	165,5	—	140,1	—	255,1	—

Die Resultate des Versuchs sind in der Fig. 3 dargestellt.

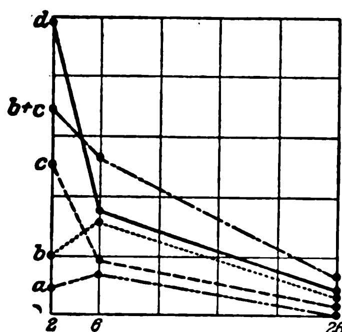


Fig. 3. Ausscheidung von Kohlensäure durch das Hefanol: *a*) in Wasser, *b*) in Saccharoselösung, *c*) in einer Lösung von brenztraubensaurem Kali, *b* + *c* Gesamtmenge der in Lösungen von Saccharose und in brenztraubensaurem Kali ausgeschiedenen Kohlensäure, *d*) in Lösungen von Saccharose und brenztraubensaurem Kali.

Zur Feststellung der Rolle, die der Carboxylase im Prozeß der alkoholischen Gärung zukommt, ist es von Wichtigkeit, den Verlauf kennen zu lernen, den die Zerlegung der Brenztraubensäure durch die Carboxylase bei Gegenwart der Saccharose einschlägt. Wenn die alkoholische Gärung und die Zerlegung der Brenztraubensäure zwei selbständige, voneinander völlig unabhängige Prozesse darstellen würden, so müßte das Hefanol in Saccharose- und Brenztraubensäurelösung Kohlensäuremengen ergeben, die der Summe der in Saccharoselösung wie auch in Brenztraubensäurelösung für sich ausgeschiedenen Kohlensäuremengen gleichkämen:

Stunden	Saccharose	Brenztraubensäure	Summe	CO_2 in 1 Std.
2	18,0	+ 51,8	= 69,8	34,9
4	64,1	+ 39,1	= 103,2	25,8
20	83,4	+ 49,2	= 132,6	6,6
			305,6	

Der Charakter der Kohlensäureausscheidung würde sich in diesem Falle so gestalten, wie er durch die Kurve *b* + *c* (Fig. 3) dargestellt ist. In Wirklichkeit gestaltet sich der Charakter der Kohlensäureausscheidung bei gleichzeitiger Hinzufügung von Saccharose und Brenztraubensäure indessen in ganz anderer Weise (Kurve *d*, Fig. 3). In den ersten zwei Stunden wird beträchtlich mehr Kohlensäure ausgeschieden (99,3) als man hätte erwarten können (69,8). Bei gemeinschaftlichem Vergären von Saccharose und Brenztraubensäure entsteht demnach während der ersten zwei Stunden eine gegenseitige Stimulierung (42 %). Hierauf tritt bei gemeinschaftlichem Vergären ein rasches Sinken ein: für die nächsten 4 Stunden 71,1 (auf Saccharose allein 64,1) statt 103,2, und für die nächsten 20 Stunden 84,7 (auf Saccharose allein 83,4) statt 132,6, d. h. es beginnt die Ausscheidung fast der gleichen Kohlensäuremengen, wie sie bei der Vergärung von Saccharose allein erhalten werden. Diese Tatsache spricht stark zugunsten einer Teilnahme der Carboxylase an dem Prozesse der alkoholischen Gärung.

Nimmt die Carboxylase an der alkoholischen Gärung teil, so muß ein Teil von ihr für diesen Prozeß verausgabt werden und nur der Rest bei der Zerlegung der Brenztraubensäure Verwendung finden. In Wirklichkeit haben wir statt 305,6 nur 255,1 mg Kohlensäure erhalten. Ein Teil der Carboxylase ist demnach für die Arbeit der Zerlegung der Saccharose verwendet worden. Letzterer Schluß hat indessen nur in dem Falle seine Gültigkeit, wenn wir zugeben, daß bei dem Vergären der Brenztraubensäure die gesamte ausgeschiedene Kohlensäure aus dieser herstammte, und daß keine Kohlensäure von einer Selbstgärung herrührte. Wenn aber bei Gegenwart der Brenztraubensäure auch eine Selbstgärung stattgefunden hat, so wird man in diesem Falle 48,3 mg von den 140,1 mg abziehen müssen, d. h. die Kohlensäure der Selbstgärung. Der für die Brenztraubensäure verbleibende Anteil beträgt 91,8 mg Kohlensäure. Wenn wir die

Kohlensäure der Selbstgärung (48,3) von den 305,6 mg abziehen, so erhalten wir 257,3 mg, d. h. eine Quantität, die der auf experimentellem Wege erzielten, d. h. 255,1 mg, sehr nahe kommt. Wenn wir demnach zugeben, daß bei der Vergärung von Brenztraubensäure allein noch eine Selbstgärung stattgefunden hat, so folgt hieraus, daß bei dem gemeinschaftlichen Vergären von Saccharose und Brenztraubensäure die Carboxylase nicht für den Prozeß der alkoholischen Gärung verwendet worden sei. Die Frage hat demnach noch keine erschöpfende Beantwortung erfahren.

Der Charakter der Arbeit der Carboxylase unterscheidet sich sehr stark von der Arbeit der Zymase. Wie aus der Fig. 3 zu ersehen ist, tritt das Maximum bei der Arbeit der Zymase nach einigen Stunden ein. Die Arbeit der Carboxylase setzt dagegen mit dem Maximum ein und fällt dann rasch, worauf schon Neuberg und Rosenthal[1]) hingewiesen haben. Die Phosphate und die Saccharose verlegen fast die gesamte Arbeit der Carboxylase auf die ersten 2 Stunden, wodurch dieselbe einen explosiven Charakter annimmt.

Versuch 9.

Drei Portionen. 1. 20 ccm Saft, 20 ccm 20%ige Saccharose, 20 ccm Wasser. 2. 20 ccm Saft, 20 ccm 2% $CH_3.CO.COOK$, 20 ccm Wasser. Nach 19 Stunden Gärung wurden 20 ccm 20%ige Saccharose hinzugefügt. 3. 20 ccm Saft, 20 ccm 2% $CH_3 \cdot CO \cdot COOK$, 20 ccm 20%ige Saccharose.

Dauer des Versuchs	Saccharose		$CH_3.CO.COOK$		Saccharose + $CH_3.CO.COOK$	
Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg
2	144,4	72,2	89,6	44,8	154,9	77,4
2	119,1	59,5	31,4	15,7	111,0	59,5
2	116,7	58,3	21,5	10,7	63,4	31,7
2	89,0	44,5	12,5	6,2	51,1	25,5
7	311,5	44,5	23,3	3,3	257,2	36,7
4	179,1	44,6	12,1	3,0	233,4 (3 Stunden)	77,7
19	959,8	—	190,4	—	871,0	—
			Es wurde Saccharose hinzugetan			
4	—	—	4,4	1,1	—	—

[1]) C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. 51, 128, 1913.

Wenn wir die aus $CH_3.CO.COOK$ und aus Saccharose erhaltenen Kohlensäuremengen addieren, so sehen wir, daß die resultierenden Zahlen stark von denjenigen abweichen, die wir auf experimentellem Wege bei gemeinschaftlicher Gärung von Saccharose und $CH_3.CO.COOK$ erhalten haben.

Stunden	Summe	in 1 Stunde	Bei gemeinschaftlicher Vergärung Summe	in 1 Stunde
2	234,0	117,0	154,9	77,4
2	150,5	75,2	111,0	59,5
2	138,2	69,1	63,4	31,7
2	101,5	50,7	51,1	25,5
7	334,8	47,8	257,2	36,7
4	191,2	47,7	233,4	77,7
	1150,2		871,0	

Der zur Verwendung gelangte Saft zeichnete sich durch starke Gärfähigkeit aus.

Bei dem gemeinschaftlichen Vergären der Saccharose und der Brenztraubensäure wurde weniger Kohlensäure ausgeschieden, als man hätte erwarten können, wenn die alkoholische Gärung und die Zerlegung der Brenztraubensäure zwei voneinander unabhängige Vorgänge darstellen würden.

Versuch 10.

Zwei Portionen alten Zymins ohne Glykogen zu je 3 g. 1. 50 ccm 20%ige Saccharose. 2. 50 ccm 20%ige Saccharose und 1%ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure.

Die erste Portion schied im Verlaufe von 26 Stunden nur 5,3 mg CO_2 aus, die zweite Portion schied Kohlensäure aus.

Stunden	Gesamtmenge der CO_2 mg	CO_2 in 1 Stunde
2	64,1	32,0
4	113,3	28,3
19	228,7	12,0
25	406,1	

Wie dies schon Neuberg[1]) angegeben hat, enthalten Präparate von Trockenhefe, die die Tätigkeit Saccharose zu vergären bereits eingebüßt haben, eine noch durchaus tätige

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 56, 497, 1913.

Carboxylase. In dem eben beschriebenen Versuch hat das alte, zur Vergärung von Saccharose fast unfähige Zymin bei deren Gegenwart aus Brenztraubensäure beträchtlich mehr Kohlensäure ausgeschieden als im 8. Versuch. Sollte hier nicht die stärkere Saccharoselösung eine Wirkung ausgeübt haben?

Versuch 11.

Drei Portionen alten glykogenhaltigen Zymins, zu je 3 g. 1. 50 ccm Wasser. 2. 50 ccm 10 %ige Saccharose. 3. 50 ccm 10 %ige Saccharose und 1 %ige, durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure.

Dauer des Versuchs Std.	Wasser		Saccharose		Saccharose u. brenztraubensaures Kali	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg
2	} 39,9	6,6	} 12,7	0,4	67,2	33,6
4					104,9	26,2
24	75,1	3,1			224,7	9,4
30	115,0	—	12,7	—	396,8	—

In dem alten, zur Vergärung der Saccharose nicht mehr tauglichen Zymin war noch eine starke Befähigung zur Selbstgärung vorhanden. In solchem Zymin bringt die Einführung von Saccharose die Selbstgärung zum Stillstand. Ein so paradoxes Resultat wurde in unserem Laboratorium mehrfach beobachtet. Man wird demnach mit Neuberg und Kerb[1]) die Selbstgärung nicht als eine typische alkoholische Gärung auffassen können. Vielleicht nehmen an ihr auch noch andere Zerfallsprodukte Anteil. Zugunsten einer derartigen Annahme sprechen die Versuche von Lvoff[2]). Dieser Autor hat gefunden, daß das Methylenblau die Ausscheidung von Kohlensäure bei der Vergärung von Saccharose aufhält und die Ausscheidung von Kohlensäure bei der Selbstgärung stimuliert.

Versuch 12.

Drei Portionen zu je 4 g alten Hefanols. 1. 50 ccm 15 %ige Saccharose. 2. 50 ccm 15 %ige Saccharose und 1 g auf dem

[1]) C. Neuberg und Kerb, diese Zeitschr. 58, 163, 1913.
[2]) S. Lvoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 3, 289, 1913.

Drahtnetz zum Sieden gebrachte Takadiastaselösung. 3. 50 ccm gekochten Hefanolsaftes und 15 %ige Saccharose.

Dauer des Versuchs	Saccharose		Saccharose und bis zur Siedehitze erwärmte Takadiastase	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg
$23^1/_2$	7,4	0,3	9,1	0,4
$18^1/_2$	1,4	0,1	3,1	0,2
42	8,8	—	12,2	—
Beiden Portionen wurden je 50 ccm einer 2%igen Lösung des Kalisalzes der Brenztraubensäure hinzugefügt.				
5	64,6	12,9	59,9	12,0
19	81,0	4,3	88,8	4,7
24	27,6	1,2	34,1	1,4
48	173,2	—	182,8	—

Dauer des Versuchs	Saccharose und bis zur Siedehitze erwärmter Hefanolsaft	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg
$23^1/_2$	67,6	2,9
$18^1/_2$	53,0	2,9
$6^1/_2$	16,9	2,6
19	21,2	1,1
$67^1/_2$	158,7	—
Es wurden 50 ccm 2%igen Kalisalzes der Brenztraubensäure hinzugefügt		
3	48,7	16,2
20	136,9	6,8
23	185,6	—

Das Hefanol erwies sich als beinahe unfähig, Saccharose zu vergären. Das Hinzufügen einer bis zum Siedepunkt erwärmten Lösung von Takadiastase blieb fast ohne jede Wirkung, während das Hinzufügen bis zum Siedegrad erhitzten Hefanolsaftes die Fähigkeit, Saccharose zu vergären, wiederherstellte. Als alle drei Portionen aufhörten, Kohlensäure auszuscheiden, wurde ihnen (nach 42 und nach $67^1/_2$ Stunden) brenztraubensaures Kali zugefügt. Es begann von neuem eine sehr heftige Kohlensäureausscheidung. Dabei schied die dritte Portion (mit Hefanolsalz), die in Saccharoselösung bereits 158,7 mg Kohlensäure ausgeschieden hatte, von neuem mehr Kohlensäure aus als die erste Portion, die in Saccharoselösung nur 8,8 mg ausgeschieden hatte. Dieses Verhalten spricht entweder für die Unabhängigkeit der Carboxylase von der alkoholischen Gärung, oder aber für eine Stimulierung der Carboxylase durch den Saft des Hefanols.

IV. Wirkung des zum Sieden gebrachten Saftes von Hefe, Fermenten und Lipoiden.

Bekanntlich stellt der zum Sieden gebrachte Saft von Hefe ein Koferment der Zymase dar. Palladin und Stane-

witsch[1]) und hierauf auch Zaleski[2]) haben nachgewiesen, daß die Entfernung der Lipoide durch verschiedene Solventien den Prozeß der Kohlensäureausscheidung seitens der Pflanzen stark abschwächt. Lvoff[3]) hat gefunden, daß das Emulsin, sowohl zum Sieden gebracht wie auch ungekocht, sowie nicht zum Sieden gebrachte Takadiastase die Arbeit der Zymase herabsetzen, während zum Sieden gebrachte Takadiastase diese Arbeit im Gegenteil stark anregt. Die nachfolgenden Versuche haben den Zweck, das Verhalten der Carboxylase den erwähnten Substanzen gegenüber festzustellen.

Versuch 13.

Drei Portionen zu je 6 g Zymin. 1. 100 ccm 1 %iges brenz traubensaures Kali, 2. 50 ccm 2 %iges brenztraubensaures Kali und 50 ccm zum Sieden gebrachter Hefanolsaft, 3. 100 ccm 1 %iges brenztraubensaures Kali und 2 g zum Sieden gebrachte Takadiastase.

Dauer des Versuchs	Brenztraubensaures Kali		Brenztraubensaures Kali und Hefanolsaft		Brenztraubensaures Kali und zum Sieden gebrachte Takadiastase	
Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg
4	144,0	36,0	205,3	51,3	162,3	40,6
4	71,9	18,0	63,4	15,9	55,4	13,8
8	215,9	—	268,7	—	217,4	—

Die Carboxylase wird demnach durch zum Sieden gebrachte Takadiastaselösung gar nicht und durch zum Sieden gebrachten Hefanolsaft nur schwach stimuliert. Um die zweite dieser Behauptungen endgültig festzustellen, müssen wir noch erfahren, ob die erhöhte Kohlensäureausscheidung von einer entsprechenden Bildung von Acetaldehyd begleitet wird, oder ob im gegebenen Falle nur eine Stimulierung der Selbstgärung vorlag.

[1]) Palladin und Stanewitsch, diese Zeitschr. 26.
[2]) Zaleski, ebenda 31, 195, 1911.
[3]) S. Lvoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 19, 1912.

Versuch 14.

Drei Portionen zu je 3 g Hefanol. 1. 50 ccm 1 %ige brenztraubensaures Kali, 2. dasselbe und 1 g zum Sieden gebrachte Takadiastase, 3. dasselbe und 1 g nicht zum Sieden gebrachte Takadiastase. Während 24 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion	....	112,0 mg
2. „	....	132,6 „
3. „	....	134,4 „

Der Unterschied ist ein sehr unbeträchtlicher.

Versuch 15.

Drei Portionen zu je 6 g Hefanol. 1. 1 % freie Brenztraubensäure, 2. dasselbe und 2 g zum Sieden gebrachte Takadiastase, 3. dasselbe und 2 g nicht zum Sieden gebrachte Takadiastase.

Während 22 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion	....	8,5 mg
2. „	....	9,5 „
3. „	....	9,5 „

Die hier beschriebenen Versuche zeigen uns, daß weder die zum Sieden gebrachten, noch auch die nicht zum Sieden gebrachten Lösungen von Takadiastase einen Einfluß auf die Vergärung der Brenztraubensäure oder ihres Kalisalzes ausüben.

Versuch 16.

Drei Portionen zu je 3 g alten Zymins. 1. 50 ccm 15 %ige Saccharose, 2. 50 ccm 15 %ige Saccharose und 1 g zum Sieden gebrachte Takadiastase, 3. 50 ccm 15 %ige Saccharose und 1 g nicht zum Sieden gebrachte Takadiastase.

Während 8 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion	....	3,8 mg
2. „	....	2,8 „
3. „	....	2,8 „

Versuch 17.

Drei Portionen zu je 3 g alten Hefanols und zu je 50 ccm 15 %ige Saccharose. Bei der 2. Portion wurde noch 1 g zum

Sieden gebrachte Takadiastase, der 3. Portion 1 g nicht zum Sieden gebrachte Takadiastase hinzugefügt.

Während 23 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion . . . . . . 15,2 mg
2. " . . . . . . 10,4 "
3. " . . . . . . 6,6 "

Die beiden letzten Versuche zeigen uns, daß man alte Zymin- und Hefanolpräparate, die wenig dazu geeignet sind, Saccharose zu vergären, nicht mit zum Sieden gebrachter Takadiastase zu stimulieren vermag. Hingegen ist zum Sieden gebrachter Hefesaft wohl zu einer derartigen Stimulierung geeignet (Versuch 11).

Versuch 18.

Drei Portionen zu je 100 ccm 1 $^0/_0$ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure. 1. 6 g Hefanol, 2. 6 g mit Toluol extrahiertes Hefanol, 3. 6 g mit Methylalkohol extrahiertes Hefanol.

Dauer des Versuchs	Nicht extrahiertes Hefanol		Mit Toluol extrahiert. Hefanol		Mit Methylalkohol extrahiert. Hefanol	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	mg	mg
$6^1/_2$	209,0	32,2	212,7	32,7	128,9	—
$22^1/_2$	105,6	4,7	105,2	4,7	83,7	—
29	314,6	—	317,9	—	212,6 — 33 $^0/_0$	—

Versuch 19.

Drei Portionen zu je 50 ccm 1 $^0/_0$ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure. 1. 3 g Hefanol. 2. 3 g mit Toluol extrahiertes Hefanol. 3. 3 g mit Äthylalkohol extrahiertes Hefanol.

Während $22^1/_2$ Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion . . . . . . 132,6 mg,
2. " . . . . . . 139,6 "
3. " . . . . . . 101,6 " (— 24 $^0/_0$).

Versuch 20.

Drei Portionen zu je 30 ccm 15 $^0/_0$ige Saccharose. 1. 1,5 g Hefanol, 2. 1,5 g mit Toluol extrahiertes Hefanol, 3. 1,5 g mit Methylalkohol extrahiertes Hefanol.

Während $3^1/_2$ Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion	. . . . . .	115,2 mg,
2. "	. . . . . .	126,9 "[1])
3. "	. . . . . .	9,9 " (—91 $^0/_0$).

Die Extraktion des Hefanols mit Methylalkohol ertötet demnach in demselben die Fähigkeit, Saccharose zu vergären, und hemmt (?) die Arbeit der Carboxylase in verhältnismäßig nur geringem Maße. Da gleichzeitig mit der Arbeit der Carboxylase auch ein Prozeß der Selbstgärung stattfindet, so wird man annehmen müssen, daß die Abnahme der Kohlensäure um 24 $^0/_0$ oder 33 $^0/_0$ nach der Extraktion mit Methylalkohol durch ein Aufhören des Prozesses der Selbstgärung erklärt wird, während die Arbeit der Carboxylase in normaler Weise verläuft. Hieraus geht hervor, daß behufs eines Studiums der Carboxylasewirkung auf Salze in möglichst reiner Form die Objekte zuvor mit Methylalkohol extrahiert werden müssen.

Versuch 21.

Drei Portionen zu je 50 ccm freier 1 $^0/_0$iger Brenztraubensäure. 1. 5 g Hefanol, 2. 5 g mit Toluol extrahiertes Hefanol, 3. 5 g mit Methylalkohol extrahiertes Hefanol.

Während 23 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion	. . . . . .	9,5 mg,
2. "	. . . . . .	14,0 "
3. "	. . . . . .	6,2 "

Versuch 22.

Eine Wiederholung des vorhergehenden Versuches.

Während 23 Stunden wurde Kohlensäure abgeschieden:

1. Portion	. . . . . .	10,4 mg,
2. "	. . . . . .	12,2 "
3. "	. . . . . .	7,1 "

---

[1]) Der kleine Überschuß an Kohlensäure bei dem mit Toluol extrahierten Hefanol läßt sich dadurch erklären, daß nach der Extrahierung bis zum Beginn des Versuchs ziemlich viel Zeit vergangen war, während derer die Gärungsfähigkeit des Kontroll-Hefanols schwächer wurde, während die extrahierten Portionen im Exsiccator über Schwefelsäure aufbewahrt wurden.

Auf die Vergärung der freien Brenztraubensäure übt die Extrahierung keine Wirkung aus. Den kleinen Überschuß (Toluol) und die kleine Herabsetzung (Methylalkohol) wird man richtiger dem Prozeß der Selbstgärung zuzuschreiben haben.

V. Die Wirkung der Autolyse.

Versuch 23.

Drei Portionen Hefanol zu je 6 g wurden bei Zimmertemperatur in 50 ccm Wasser und 2 ccm Toluol der Autolyse im Verlaufe von 24 Stunden unterworfen. Hierauf wurden zu der ersten Portion 50 ccm Wasser, zu der zweiten 50 ccm 20%ige Saccharose, zu der dritten endlich 50 ccm 2%ige, durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure hinzugetan.

Dauer des Versuchs	Wasser		Saccharose		Brenztraubensaures Kali	
Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg
2	31,6	15,8	28,9	14,4	90,5	45,2
4½	} 14,9	0,6	42,2	9,9	62,3	14,6
24			201,1	10,5	91,3	4,5
3	—	—	7,9	2,6	—	—
33½	46,5	—	280,1	—	244,1	—

Versuch 24.

Eine Wiederholung des vorhergehenden Versuchs. Autolyse 2 Tage bei Zimmertemperatur.

Dauer des Versuchs	Wasser		Saccharose		Brenztraubensaures Kali	
Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg
2	18,4	9,2	18,4	9,2	36,0	18,0
4	—	—	93,1	23,3	27,2	6,8
12	—	—	—	—	34,2	2,8
18	—	—	111,5	—	97,4	—

Versuch 25.

Eine Wiederholung des vorhergehenden Versuches. Autolyse 3 Tage bei Zimmertemperatur.

Während 4 Stunden wurden an Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion . . . . . . 28,9 mg,
2. " . . . . . . 21,0 "
3. " . . . . . . 29,8 "

Versuch 26.

Eine Wiederholung des vorhergehenden Versuchs. Autolyse 4 Tage bei 25 bis 28°.

Während 3 Stunden wurde an Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion . . . . . . 2,6 mg,
2. " . . . . . . 2,6 "
3. " . . . . . . 10,5 "

Während der Autolyse wird die Carboxylase nach und nach zerstört, und zwar annähernd mit der gleichen Geschwindigkeit wie das Zymin.

VI. Einfluß des Glycerins.

Versuch 27.

Drei Portionen zu je 6 g Zymin und je 1 g durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure, 1. 100 ccm Glycerin, 2. 50 ccm Glycerin und 50 ccm Wasser, 3. 25 ccm Glycerin und 75 ccm Wasser.

Die 1. Portion hatte während 24 Stunden nur 23,0 mg Kohlensäure ausgeschieden.

Dauer des Versuchs Std.	Glycerin 50%		Glycerin 25%	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std. mg
2	62,8	31,4	89,0	44,5
3	60,9	20,3	70,2	23,4
16	74,9	4,7	80,1	5,0
6	26,7	4,5	30,5	5,1
20	48,7	2,4	42,6	2,1
23	39,4	1,7	37,5	1,6
23½	26,2	1,1	26,2	1,1
93½	339,6	—	376,1	—

Starkes Glycerin hält die Arbeit der Carboxylase fast völlig auf. Schwache Glycerinlösungen ziehen die Arbeit der Carboxylase auf eine größere Anzahl von Stunden hinaus.

Neuberg und Kerb[1]) haben gefunden, daß ein Hinzufügen von verdünntem Glycerin die Bildung von Alkohol aus der Brenztraubensäure begünstigt.

VII. Wirkung des Wasserstoffperoxyds auf die Brenztraubensäure.

Versuch 28.

Drei Portionen. 1. 50 ccm 1%ige Brenztraubensäure und 10 ccm 3%iges Wasserstoffsuperoxyd, 2. 50 ccm 1%ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure und 10 ccm 3% H_2O_2, 3. 50 ccm 1%ige durch MgO neutralisierte Brenztraubensäure und 10 ccm H_2O_2.

Dauer des Versuchs	Brenztraubensäure		Brenztraubensaures Kali		Brenztraubensaures Magnesium	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	mg	mg
1/2	165,2	525,0	178,8	357,6	195,4	390,8
1	83,9	89,3	56,7	56,7	17,1	17,1
3	4,8	1,6	4,8	1,6	6,6	2,2
17 1/2	1,3	0,1	1,3	0,1	7,9	0,5
22	255,2	—	241,6	—	227,0	—
Zu einer jeden Portion wurden je 10 ccm 3% H_2O_2 hinzugegossen.						
22 1/2	0,4	0,2	0,4	0,2	0,4	0,2

Versuch 29.

300 ccm 1%ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure und 50 ccm 3%iges Wasserstoffperoxyd.

Während 46 1/2 Stunden wurden 1435,3 mg CO_2 entwickelt. Nach Beendigung des Versuchs blieb in dem Kolben noch Brenztraubensäure zurück. Die erste Destillation wurde

[1]) C. Neuberg und J. Kerb, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 46, 2225, 1913; diese Zeitschr. 53, 407, 1913.

aus einem mit Soda beschickten Kolben ausgeführt. Sie ergab folgende Reaktionen: 1. auf Lackmus eine neutrale Reaktion; 2. die Reaktion auf Jodoform; 3. den Silberspiegel; 4. eine schwache Färbung durch fuchsinschweflige Säure. Die zweite Destillation wurde aus einer mit Schwefelsäure angesäuerten Lösung ausgeführt. Dieselbe ergab folgende Reaktionen: 1. auf Lackmus eine saure Reaktion; 2. die Reaktion auf Jodoform; 3. mit $AgNO_3$ einen Niederschlag.

Versuch 30.

Drei Portionen zu je 50 ccm 1%ige durch Ätzkali neutralisierte Brenztraubensäure und je 14 ccm 3% H_2O_2. 1. 36 ccm Wasser, 2. 30 ccm Peroxydase aus Meerrettich und 6 ccm Wasser, 3. 30 ccm Peroxydase, 1 g Brenzkatechin und 6 ccm Wasser.

Dauer des Versuchs	H_2O_2		H_2O_2 und Peroxydase		H_2O_2, Peroxydase und Brenzkatechin	
	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.	CO_2	CO_2 in 1 Std.
Std.	mg	mg	mg	mg	mg	mg
2	138,4	69,2	125,2	62,6	13,7	6,9
2	11,0	5,5	26,4	13,2	3,1	1,6
16	2,2	0,1	1,8	0,1	3,1	0,2
20	151,6	—	153,4	—	19,9	—

Die Zerlegung der Brenztraubensäure durch Wasserstoffperoxyd ist schon von Holleman[1]) ausgeführt worden. Dieser Autor erhielt dabei Kohlensäure und Essigsäure. Unsere Versuche zeigen, daß Wasserstoffperoxyd die Brenztraubensäure mit der gleichen Geschwindigkeit zerlegt, wie dies durch die Carboxylase geschieht. Das Hinzufügen von Peroxydase übt nicht die geringste (oder vielmehr eine hemmende) Wirkung auf die Zerlegung der Brenztraubensäure durch Wasserstoffperoxyd aus. Diese Tatsache ist ein neuer Beweis dafür, daß die Peroxydase nur aromatische Verbindungen oxydieren kann. Durch das Hinzufügen von Peroxydase und Brenzkatechin wird

[1]) A. F. Holleman, Recueil des travaux chimiques des Pays Bas 23, 169, 1904.

die Zerlegung der Brenztraubensäure durch Wasserstoffperoxyd fast gänzlich aufgehalten, weil in diesem Falle die Peroxydase die Wirkung des Wasserstoffperoxyds auf das Brenzkatechin hinlenkt. Das System Peroxydase + Atmungschromogen dient demnach zur Entfernung des Wasserstoffs ($C_6H_6O_2 + O = C_6H_4O_2 + H_2O$), worauf von einem der Verfasser[1]) schon früher hingewiesen worden ist.

---

[1]) W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 91, 1912.

Bestimmung von freiem Aminosäurestickstoff im Blute nach van Slyke mit salzsaurer Sublimatlösung.

Von

Artur H. Rosenberg (Berlin).

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 3. April 1914.)

Das van Slykesche Verfahren der Aminostickstoffbestimmung, bereits im Jahre 1910 veröffentlicht[1]) und inzwischen bis zur mikroanalytischen Feinheit durchgebildet, hat trotz seiner Einfachheit und bedingungslosen Zuverlässigkeit nicht die verdiente Verbreitung gefunden. Bisher ist in dieser Zeitschrift nicht eine Arbeit erschienen, die sich dieser Methode als Grundlage bediente.

In allerjüngster Zeit haben van Slyke und Meyer[2]) mit diesem Verfahren Resultate von weittragender Bedeutung erzielt. Sie bedienen sich zur Extraktion der Aminosäuren ausschließlich des Alkohols. Um die Eiweißkörper aus dem Untersuchungsmaterial vollständig zu entfernen, ist mindestens die zehnfache Menge Alkohol erforderlich. Dieses zuverlässige Enteiweißungsmittel ist also bei größeren Versuchsreihen in Deutschland recht kostspielig.

In dieser Zeitschrift veröffentlichte nun Costantino[3]) seine Erfahrungen über die zuerst von Schenk[4]) angegebene und von Bingel[5]) modifizierte Fällungsmethode mittels 2%iger

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 3170, 1910.
[2]) Journ. of Biolog. Chem. 16.
[3]) Diese Zeitschr. 55, 419, 1913.
[4]) Arch. f. d. ges. Physiol. 55, 203, 1894.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 382, 1908.

Sublimatlösung, die 0,8 % HCl enthält. Er hebt die „Einfachheit, Billigkeit und Genauigkeit“ der Methode hervor, welche „geringe Flüssigkeitsmengen liefert, die völlig ungefärbt sind“. Der letzte Umstand ist für Costantino von Bedeutung, weil er sich der Formoltitration bedient.

Es handelte sich nun darum, festzustellen, ob diese Fällungs- und Extraktionsmethode auch für das van Slykesche Verfahren brauchbar wäre.

Versuch 1.

0,1202 g Alanin in 50 ccm der angesäuerten Sublimatlösung werden über freier Flamme auf einige Kubikzentimeter eingeengt und direkt zur Bestimmung benutzt. Die Gasentwicklung ist nach der Einengung wegen des relativ sehr hohen HCl-Gehaltes stürmisch. Entwicklungsdauer bei allen Versuchen 5 Minuten. T. 20°, B. 760 mm. Gewonnener Stickstoff 30,5 ccm. Korrekturabzug 0,4, mithin 30,1 ccm : 2 = 0,0171 g Aminostickstoff. Theoretischer Wert 0,0189 g.

Versuch 2.

0,1196 g Asparaginsäure, die in Wasser nur schwer löslich ist, in 10 ccm Sublimatlösung aufgenommen. Lösung erfolgt unter gelindem Erwärmen dank dem HCl-Gehalt leicht. Die 10 ccm werden im Meßkölbchen auf 25 ccm gebracht und davon 10 ccm = 0,0478 g Asparaginsäure zur Bestimmung benutzt. T. 20°, B. 741 mm. Gewonnener N 9,6 ccm. Korrekturabzug 0,4, also 9,2 ccm : 2 = 0,0050 g Aminostickstoff. Theoretischer Wert 0,0050 g.

Die nicht allzu großen Differenzen zu dem theoretischen Werte — zumal da die Fehlerbreite der Methode ± 0,1 mg beträgt — erklären sich durch die Verluste beim Einengen und sind durch Benutzung des Wasserbades vermeidbar. Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß das Lösungsmittel die Reaktion im Entwicklungsapparat nicht stört, daß vielmehr der Stickstoff quantitativ abgegeben wird und daß die Anwesenheit der Salzsäure die Lösung der schwer löslichen Aminosäuren wesentlich erleichtert.

Nachdem so die Brauchbarkeit dieser Methode erwiesen, konnte zur Untersuchung von Blut übergegangen werden.

Versuch 3.

Blut von einem 3 jährigen Ochsen wurde im Schlachthause in einem trockenen, großen Pulverglase aufgefangen, defibriniert und bereits 3 Stunden später im Laboratorium durch Gaze filtriert.

100 ccm davon wurden in einem weithalsigen Glase mit 500 ccm der angesäuerten Sublimatlösung kräftig geschüttelt und unter zeitweilig wiederholtem Schütteln mehrere Stunden kühl stehen gelassen. Das Gerinnsel setzt sich glatt ab, die darüber stehende Lösung ist wasserklar. Der Inhalt der Flasche wird durch ein trockenes Faltenfilter filtriert, von dem schnell erhaltenen, farblosen, klaren Filtrate ein abgemessener Teil auf dem Wasserbade bis auf wenige (4 bis 6) Kubikzentimeter eingeengt und annähernd mit NaOH neutralisiert. Das Filtrat hiervon ergab mit einer Lösung von sulfosalicylsaurem Natrium keine Trübung, es waren also auch keine Albumosen mehr in Lösung. Biuretreaktion war negativ. Von Vakuumdestillation wurde Abstand genommen, da sie nach van Slyke wegen der sehr geringen Mengen Ammoniak usw. im Blute nicht unbedingt erforderlich ist[1]). Es ergaben:

	Filtrat ccm	T. °C	B. mm	Entwickelter N (korrigiert) ccm	Amino-N (berechnet) mg	Aminos.-N in 100 ccm Blut mg
1.	200	20	750	5,5	3,132	9,3888
2.	100	20	750	2,7	1,537	9,2220

Da die Kontrollbestimmung aus 100 ccm des Filtrats eine relativ große Menge entwickelten Gases ergab, so lag es nahe, als Ausgangsmaterial nur 20 ccm Blut zu benutzen und dieses mit einer Rekordspritze aus der menschlichen Armvene zu entnehmen. Bei einigermaßen schnellem Operieren gelingt es ohne Schwierigkeit, eine Entleerung des immer gleichen Gesamtinhalts der graduierten Spritze in je 100 ccm der oben angegebenen Sublimatlösung zu erzielen.

Fünf derartig angestellte Versuche an vier Personen ergaben folgende Resultate:

[1]) Die ausführliche Begründung hierfür in den verschiedenen Veröffentlichungen von van Slyke im Journ. of Biolog. Chem. 12 bis 16.

Fall	Blut und Lösung	Filtrat	T.	B.	Entwickelter Amino-N (korr.)	Amino-N	
						in d. aufg. Menge	in 100 ccm Blut
	ccm	ccm	°C	mm	ccm	ccm	mg
1. R.	20 + 100	93	21	755	3,4	2,04	10,2
2. Schw.	20 + 120	100	22	759	3,0	2,4	12,0
3. „	20 + 120	100	22	759	3,2	2,5	12,5
4. K.	17 + 100	90	21	749	2,8	2,07	12,3
5. D.	20 + 100	90	20	749	3,0	2,26	11,3

Aus diesen Werten irgendwelche Folgerungen zu ziehen, geht natürlich nicht an; aber es ergibt sich aus den obigen Ausführungen:

1. daß angesäuerte 2%ige Sublimatlösung auch für das van Slykesche Verfahren ein ausgezeichnetes Eiweißfällungs- und Extraktionsmittel ist;

2. daß bereits geringe Blutmengen, im Gegensatz zum Formoltitrationsverfahren, genügen, um leicht und exakt den Gehalt an Aminosäurenstickstoff im Blute zu bestimmen;

3. daß diese Methode verdient, auf breitester Grundlage für klinische Zwecke verwandt zu werden.

Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und der Kolloidchemie.
Mit besonderer Berücksichtigung des Blutgerinnungsproblems.

Von

E. Hekma.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 23. März 1914.)

I.
Einleitung. Vorversuche.

Meine Untersuchungen über das Fibrin und einigen mit diesem interessanten Stoff zusammenhängenden Fragen fanden ihren Ausgangspunkt in Versuchen über die Abstammung und Bildung des Milchcaseins. Es lag letzteren Versuchen der Gedanke zugrunde, daß der Mutterstoff bzw. einer der Mutterstoffe des Caseins voraussichtlich im Blutfibrinogen oder etwa in den Blutplättchen zu suchen wäre. Bei der experimentellen Prüfung dieses, soweit mir bekannt neuen Gesichtspunktes in Hinsicht zu der Caseinabstammungsfrage wurde anfangs mit gewöhnlichem, mittels Schlagens von Blut gewonnenem Fibrin gearbeitet. Und zwar auf Grund der Erwägung, daß in dieses rohe Fibrin bei seiner Entstehung sowohl Blutplättchen wie Fibrinogen übertreten.

Im Laufe der entsprechenden Experimente wurden dann einige anfangs recht unverständliche Beobachtungen gemacht, die mich dazu veranlaßten, Untersuchungen über das Fibrin anzustellen von mehr allgemeinen Gesichtspunkten aus. Dabei geriet ich dann wider Willen auch in das Labyrinth der Blutgerinnungsfrage und die vielen mit diesem Problem zusammenhängenden Fragen. Inwieweit ich in diesem Labyrinthe den richtigen Weg gefunden habe, möge aus der Berichterstattung meiner Erfahrungen ersichtlich werden.

Was nun die einleitenden Untersuchungen zur Caseinfrage betrifft, so war es meine Absicht, das Fibrin einer gewissen Spaltung zu unterwerfen. Ich vermutete nämlich damals (d. h. vor etwa 10 Jahren), daß die gesuchten Bausteine für die Caseinbildung nicht in dem Fibrinogen oder den Blutplättchen fertig vorhanden, sondern in gewissen Abbauprodukten dieser Körper enthalten sein würden. Von dieser Voraussetzung ausgehend, ließ ich Alkalien, Säuren und Fermente auf das Fibrin einwirken in der Erwartung, daß das Fibrin unter diesen Einflüssen abgebaut werden würde, während ich dann beabsichtigte, die erhaltenen Abbauprodukte unter gewissen Umständen mit Phosphorsäure und phosphorsäurehaltigen organischen Substanzen, namentlich auch solchen von der Milchdrüse stammenden, zusammenzubringen. Es ist keineswegs meine Absicht, diese Vorversuche einer ausführlichen Besprechung zu unterwerfen; ich werde mich vielmehr auf die Mitteilung einiger Vorversuchsergebnisse und die Anführung einiger einschlägigen Versuchsbeispiele beschränken.

Läßt man auf rohes Fibrin (d. h. die gewöhnliche, tüchtig ausgewaschene weiße Fibrinfasermasse) eine schwache Säure- oder Alkalilösung einwirken, so quillt das Fibrin bekanntlich, während es schließlich in Lösung geht[1]). Wird eine größere Menge des Fibrins in Alkali (z. B. 0,1 bis 0,5 $^0/_0$ NaOH) oder Säure (z. B. 0,1 bis 0,5 $^0/_0$ H_3PO_4 oder HCl) belassen, so löst sich die gequollene Fibrinmasse erst nach einigen Tagen[1]). Ordnet man diesen Versuch in der Weise an, daß so viel Fibrin zur Verwendung kommt, daß die gesamte vorhandene alkalische oder saure Flüssigkeit von der Fibrinmasse imbibiert wird, während man die gequollene Masse weiter sich selbst überläßt, dann verflüssigt sich eine solche Masse ebenfalls, aber erst innerhalb 5 bis 10 Tagen (bei Zimmertemperatur). In allen den genannten Fällen entsteht eine verflüssigte Masse derart, daß am Boden des Gefäßes ein ungelöster Detritusrest zurückbleibt. Die erhaltenen Lösungen, namentlich die sehr konzentrierten, lassen sich nur sehr schwer filtrieren. Auch dann, wenn die Flüssigkeiten zuerst durch Gase filtriert worden sind, geht die nachherige Filtration durch Papierfilter nur sehr

[1]) Gemeint in der Kälte bzw. Zimmertemperatur.

langsam vor sich. Die Filterporen werden bald dermaßen verstopft, daß keine Flüssigkeit mehr durchläuft. (Die Porenverstopfung wird offenbar verursacht von aus den Nebenbestandteilen des rohen Fibrins herkommenden Stoffen, was aus dem Umstande hervorgeht, daß ähnliche Lösungen von reinerem Fibrin sich bequem filtrieren lassen, wie später dargetan werden wird.) Nur unter wiederholter Erneuerung der Papierfilter konnte ich von der Gesamtflüssigkeit Filtrate bekommen. Die so erhaltenen Filtrate sind für gewöhnlich etwas gefärbt und opalescierend bis leicht trübe, übrigens dünnflüssig. Über mit solchen filtrierten Lösungen von rohem Fibrin in Alkali bzw. Säure angestellten Versuche werde ich nunmehr in aller Kürze berichten. Es sei nochmals nachdrücklich darauf hingewiesen, daß diese Lösungen bei Zimmertemperatur hergestellt wurden.

Es stellte sich zunächst heraus, daß bei einer Hinzufügung von Orthophosphorsäure zu einer konzentrierten Fibrinalkalilösung unter gewissen Umständen ein Niederschlag erhalten werden konnte, der nach wiederholtem Auswaschen mit Wasser und nachheriger kurzer Alkoholbehandlung Lackmuspapier gegenüber saure Reaktion zeigte. Weiter ergab sich, daß ein solcher Niederschlag mittels sehr verdünnter Natronlauge wieder zur Auflösung zu bringen war, während in letzterer Lösung von (saurer) Labessenz Gerinnung hervorgerufen werden konnte, Mit einigem guten Willen könnte man in diesem Ergebnis eine Andeutung sehen, daß ich mich hier auf dem rechten Weg befand, der zu der Lösung der Caseinbildungsfrage würde leiten können. Das war denn auch, wie sich erst viel später herausgestellt hat, tatsächlich der Fall; so einfach, wie ich anfangs auf Grund des Ausschlags dieser und ähnlicher Versuche zu glauben geneigt war, war die Sache indessen nicht. Es zeigte sich nämlich bald, daß ein großes Aber bei dem erwähnten Versuchsergebnis war. Denn es ergab sich, daß Gerinnung in der eben erwähnten Lösung nicht nur eintreten konnte sowohl bei Ab- wie Anwesenheit von Kalksalzen, sondern daß unter Umständen ebenfalls Gerinnung stattfand unter dem Einfluß von vorher gekochter (saurer) Labessenz. Die Sachlage war jedoch noch unverständlich und verwickelt genug. Denn es erwies sich bei der fortgesetzten Untersuchung zunächst, daß bei einer gewissen Versuchsanordnung auch in der ursprünglichen

Fibrinalkalilösung, also primär, Gerinnung erzeugt werden konnte, einfach unter dem Einfluß von hinzugefügter Orthophosphorsäure, und ebenfalls von ungekochter und gekochter Labessenz, und zwar unter der Bedingung, daß einer Fibrinalkalilösung soviel Labessenz oder Orthophosphorsäure hinzugesetzt wurde, bis die Reaktion des Gemisches eine ungefähr neutrale geworden war. Indem zunächst dabei ein Niederschlag entstand, wurde beobachtet, daß der anfängliche Niederschlag, sich selbst überlassen, sich nach einiger Zeit in ein Gerinnsel verwandeln konnte. Ich hatte schon mehrmals den Eindruck bekommen, daß solche und ebenfalls die vorher genannten Gerinnsel aus einer Fasermasse zusammengesetzt waren, und die mikroskopische Untersuchung lehrte denn auch bald, daß dergleichem Gerinnsel tatsächlich ein Fädchennetzwerk zugrunde lag. Die erwähnten Beobachtungen gaben naturgemäß zu der Frage Veranlassung, in welcher Weise diese unerwarteten und fremdartigen Erscheinungen zu deuten sein würden. Obwohl, wie gesagt, die Erscheinungen mir anfangs ganz unverständlich erschienen, war doch diesen Versuchen eins zu entnehmen, nämlich die Tatsache, daß Säure bei dem Zustandekommen der beobachteten Gerinnungen eine bedeutende Rolle zu spielen schien. Das bestätigte sich denn auch weiter. Es stellte sich nämlich heraus, daß nicht nur von saurer Labessenz und Orthophosphorsäure, sondern auch von allerhand anderen Säuren, wie Metaphosphorsäure, Salpetersäure, Salzsäure sowie von gewissen sauren Salzen, wie Lösungen von sauren K-, Na- und Ca-Phosphat, Gerinnungserscheinungen in Fibrinalkalilösungen hervorgerufen werden konnten. Dazu kam dann noch die Wahrnehmung, daß auch dann, wenn soviel einer mäßig stark konzentrierten Säure zu einer Fibrinalkalilösung hinzugegeben wurde, daß die Reaktion eine stark sauere ward, Gerinnung eintreten konnte. Während außerdem festgestellt wurde, daß, nachdem einer Fibrinalkalilösung unter stetem Rühren so viel Säure hinzugefügt worden war, bis die Flüssigkeit nur noch sehr schwach alkalisch reagierte, in letzterer Flüssigkeit von verdünnten $CaCl_2$-Lösungen und ebenfalls von gesättigten Neutralsalzlösungen ein Niederschlag herbeigeführt werden konnte, der, während einer gewissen Zeit sich selbst überlassen, sich in ein Fasernetzwerk verwandelte.

Nachdem sich also ergeben hatte, daß in Fibrinalkalilösungen unter Säureeinfluß Gerinnungserscheinungen hervorgerufen werden konnten, wurde nunmehr genauer geprüft, unter welchen Bedingungen diese Gerinnung eintrat. Es stellte sich dabei folgendes heraus. Wurde einer größeren Menge einer filtrierten Lösung von rohem Fibrin in verdünntem Alkali (z. B. 0,5 $^0/_0$ NaOH) mäßig stark konzentrierte Säure (z. B. HCl von 15 bis 25 $^0/_0$) tropfenweise bei Zimmertemperatur hinzugesetzt, so entstand sofort entweder ein Niederschlag oder, in konzentrierten Fibrinalkalilösungen, eine Haut, während diese Erzeugnisse durch Schütteln zum Verschwinden gebracht werden konnten, solange die Gesamtflüssigkeit noch deutlich alkalische Reaktion zeigte. Die sich bildende Haut oder Membran reichte dann für gewöhnlich von der Oberfläche bis zum Boden, dem Weg, den der Säuretropfen zurückgelegt hatte, entsprechend. Eine solche Haut zeigte Lackmuspapier gegenüber saure Reaktion, während die umgebende Flüssigkeit noch alkalisch war. Also ein saures Gerinnsel in einem alkalischen Medium! Änderte man diesen Versuch in der Weise ab, daß ein äußerst kleiner Tropfen Salzsäure (1,126 D) oder Salpetersäure (1,2 D) mittels eines fein ausgezogenen Glasröhrchens inmitten der Fibrinalkalilösung gebracht wurde, so bildete sich an Ort und Stelle ein genau umschriebener Niederschlag, der ebenfalls saure Reaktion besaß. Der erwähnte Vorgang der Niederschlags- bzw. Hautbildung (den Häuten lag ein Fadengerüst zugrunde, wie die mikroskopischen Untersuchungen lehrten) und Lösung der Erzeugnisse durch Schütteln bzw. Rühren ließ sich, wie gesagt, wiederholen, solange die Flüssigkeit noch alkalisch reagierte, mit dem Unterschied, daß das Erzeugnis jedesmal um so voluminöser ward, je mehr die alkalische Reaktion der Flüssigkeit abnahm. Schließlich wurde dann ein Punkt erreicht, in dem das Erzeugnis nicht mehr durch Rühren oder Schütteln zum Verschwinden zu bringen war. Es zeigte sich, daß in dem Stadium der bleibenden Niederschlags- bzw. Gerinnselbildung die Reaktion der Flüssigkeit eine nahezu neutrale war. Von einem umschriebenen Punkt dürfte eigentlich nicht gesprochen werden, es konnte nämlich sowohl bei äußerst schwach alkalischer, wie neutraler, wie äußerst schwach saurer Reaktion der Flüssigkeit ein bleibender Niederschlag bzw. ein Gerinnsel entstehen. Das

Gerinnsel selbst besaß jedoch unter allen diesen Umständen schwache, aber deutlich nachweisbare saure Reaktion. Wurde in diesem Stadium etwas mehr Säure hinzugefügt, so daß die Flüssigkeit sehr deutlich sauer wurde, dann löste sich das Gerinnsel allmählich wieder. In letzterer nunmehr also saurer Lösung konnte dann inzwischen aufs neue Gerinnselbildung hervorgerufen werden dadurch, daß man zu dieser Lösung bedeutend mehr von der hochkonzentrierten Säure (z. B. HCl 15 bis 25 %) gab, oder auch dadurch, daß der Lösung verdünntes Alkali bis um den neutralen Punkt herum hinzugesetzt wurde, oder schließlich in der Weise, daß man die Lösung mit einer gesättigten Neutralsalzlösung versetzte.

Wurde zu einer Fibrinalkalilösung Säure in sehr schwacher Konzentration (z. B. 0,5 % H_3PO_3 oder HCl) hinzugefügt, so entstand ebenfalls um den neutralen Punkt herum ein bleibendes Gerinnsel, gewöhnlich in der Weise, daß zuerst Ausflockung eintrat, während das Präcipitat sich dann nachträglich in ein Fadennetzwerk umwandelte, nämlich wenn mit weniger stark konzentrierter Fibrinalkalilösung gearbeitet wurde. In stark konzentrierten Fibrinalkalilösungen wurde auch von sehr verdünnter Säure um den neutralen Punkt herum unter Umständen sofort eine Haut oder wenigstens ein sehr dichtes Fasernetzwerk gebildet.

Wurde auf einmal eine größere Quantität einer konzentrierten Säure (z. B. HCl 15 bis 25 %) zu einer Fibrinalkalilösung hinzugesetzt, so entstand sofort ein starkes Gerinnsel entweder in Membranform oder, in sehr konzentrierter Fibrinalkalilösung, sogar in der Form eines Kuchens. Es trat also hier Gerinnung ein bei stark saurer Reaktion des Mediums.

Wurde dem in letzterer Weise, also bei stark saurer Reaktion gebildeten Gerinnsel Wasser hinzugefügt, so lösten sich die Gerinnsel schließlich wieder. Dagegen konnten diejenigen Gerinnsel, die in Fibrinalkalilösungen unter Säureeinfluß um den neutralen Punkt herum erzeugt worden waren, mit Wasser ausgewaschen werden, ohne sich zu lösen. Die für gewöhnlich etwas gefärbten Gerinnsel verwandelten sich dabei in eine weiße Fasermasse, die dem Fibrin ähnlich aussah. Solche Fasermassen konnten wieder in sehr verdünntem Alkali gelöst werden, während dergleichen Lösungen dieselben Eigenschaften Säure gegenüber

zeigten wie das Ausgangsmaterial: die ursprüngliche Fibrinalkalilösung.

Aber nicht nur von schwachem Alkali, sondern auch von sehr verdünnter Säure konnte die eben erwähnte, mit Wasser ausgewaschene Fasermasse zur Lösung gebracht werden, während in letzteren Lösungen mittels Hinzufügen von Alkali bis um den neutralen Punkt herum wieder Gerinnselbildung hervorzurufen war. Die Gerinnung in den sekundären alkalischen oder Säurelösungen trat für gewöhnlich in der Weise ein, daß zuerst ein feinflockiger Niederschlag entstand, der sich dann, sich selbst überlassen, in ein Fädchennetzwerk verwandelte, das makroskopisch in der Regel bereits als solches zu erkennen war. Dieser Prozeß des Wiederauflösens und Gerinnselbildens konnte dann, wie sich herausstellte, noch mehrmals wiederholt werden.

Inzwischen hatte sich ergeben, daß mit Lösungen von rohem Fibrin in irgendeiner schwach konzentrierten Säure ganz ähnliche Resultate erzielt werden konnten wie mit Fibrinalkalilösungen. In einer Lösung von rohem Fibrin in 0,1 bis 0,5 $^0/_0$iger Salzsäure oder Orthophosphorsäure z. B. trat auf Hinzufügung von Alkali bis um den neutralen Punkt herum Gerinnselbildung ein. Auch diese Gerinnsel ließen sich in Wasser auswaschen und in sehr schwachem Alkali oder sehr verdünnter Säure wieder lösen, während in solchen Lösungen dann unter denselben Umständen, wie oben erwähnt, wieder Gerinnung hervorzurufen war. Offenbar handelte es sich also in allen den genannten Fällen um einen Körper, von rohem Fibrin herrührend, der nach Belieben unter dem Einfluß von Säure und Alkali aus dem Sol- in den Gelzustand und umgekehrt übergeführt werden konnte, also um äußerst reversible Reaktionen.

Mit was für einem merkwürdigen gerinnbaren Stoff könnte man es hier zu tun haben? Es lagen in dieser Hinsicht, wie mir schien, zwei Möglichkeiten vor.

Entweder mußte angenommen werden, daß das Fibrin bei seiner Lösung in Alkali oder Säure, der gangbaren Anschauung und meiner Voraussetzung gemäß, abgebaut worden war, indem dabei ein gerinnbares, bis jetzt unbekanntes Abbauprodukt entstanden sein könnte.

Oder man hatte mit der Möglichkeit zu rechnen, daß das Fibrin bei seiner Lösung von Alkali oder Säure nicht abgebaut worden war, sondern daß dieser Stoff selber unter Alkali- bzw. Säureeinfluß in den Solzustand übergegangen sein könnte, während dann zu gleicher Zeit gefolgert werden mußte, daß das Fibrin aus diesem Sol- wieder in den Gelzustand und umgekehrt umgewandelt werden könnte, daß also mit anderen Worten das Fibrin selbst als ein reversibles Gel zu betrachten sei.

Der letztgenannten Möglichkeit stand ich begreiflicherweise anfangs sehr skeptisch gegenüber. Denn erstens war sie im Widerspruch mit der gangbaren Anschauung, von der ich ja auch bei meinem anfänglichen Arbeitsplan ausgegangen war, daß das Fibrin bei seiner Lösung in Alkali oder Säure gespalten werde[1]). Zweitens war sie im flagranten Streit mit der vorherrschenden Meinung, daß das Fibrin als ein irreversibles Gel zu betrachten sei. Drittens war kaum anzunehmen, daß die Fibringerinnung sowohl in einem alkalischen wie neutralem und sogar stark saurem Medium würde vor sich gehen können, wie es ja tatsächlich mit der vorliegenden Substanz der Fall war. Und last not least schien es mir anfangs, als ob diese Möglichkeit ganz außer Betracht gelassen werden dürfte, als sich herausstellte, daß auch in Fibrinalkali- und Säurelösungen, die vorher gekocht worden waren, Gerinnungserscheinungen in ähnlicher Weise wie in den ungekochten Lösungen erzeugt werden konnten. Ich war nämlich damals felsenfest überzeugt von der Richtigkeit der Anschauung, daß die Fibringerinnung zustande käme unter dem Einfluß eines „Fibrinferments". Demgemäß hatte ich mir, vorausgesetzt daß es sich schließlich doch um Fibrin im Sol- und Gelzustande handeln könnte, denn auch vorgestellt, daß die Umwandlung des Fibrins aus dem gelösten in den ungelösten Zustand dadurch zustande gekommen sein könnte, daß in dem Fibrin „Fibrinferment" vorhanden

---

[1]) Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Fibrinalkali- bzw. Fibrinsäurelösungen bei Zimmertemperatur hergestellt wurden. Bei Körpertemperatur löste sich das Fibrin zwar bedeutend schneller, in solchen Lösungen konnte jedoch für gewöhnlich keine Gerinnung hervorgerufen werden.

gewesen wäre, das bei der Verflüssigung des Fibrins in die Flüssigkeit mit übergetreten sein könnte, während die Wirkung dieses „Fibrinferments" dann in diesen Fällen vielleicht erst unter Mithilfe von Säure bzw. Alkali zum Ausdruck hatte kommen können. Von den Versuchen mit den gekochten Fibrinlösungen wurde nun aber nachgewiesen, daß die Gerinnung des in Rede stehenden Körpers vor sich gehen konnte ohne jegliche Mitwirkung eines Ferments, denn ein eventuell sich beteiligendes „Fibrinferment" mußte ja in der Siedehitze zerstört worden sein.

Es ließen sich also so viele anscheinend stichhaltige Einwände gegen die Möglichkeit, daß es sich im vorliegenden Falle um das Fibrin selbst im Sol- und Gelzustande handeln könnte, erheben, daß ich damals stark zu der Ansicht geneigt war, daß mir ein ganz unbekannter gerinnbarer Stoff in die Hände gekommen war. Ich will dabei nicht versäumen zu erwähnen, daß ich vielleicht um so leichter zu der letztgenannten Anschauungsweise geneigt war, weil dieses Ergebnis, sei es auch nicht gerade ganz, denn doch einigermaßen mit dem Gedankengang, der meinem ursprünglichen Arbeitsplan zugrunde gelegt worden war, im Einklang gestanden haben würde.

Andererseits wurden bei den fortgesetzten Versuchen mit dem rohen Fibrin Beobachtungen gemacht, die für die Möglichkeit zu sprechen schienen, daß es sich doch um Fibrin selbst handeln könnte. Dazu gehörte namentlich die Wahrnehmung, daß unter Umständen in den Lösungen des aus den rohen Fibrinlösungen erhaltenen Gerinnsels auch unter dem Einfluß von Blutserum Gerinnung hervorgerufen werden konnte. Aber merkwürdigerweise wurde zu gleicher Zeit die sonderbar erscheinende Tatsache festgestellt, daß Gerinnung unter Serumeinfluß nicht nur eintreten konnte in mittels äußerst verdünnten Alkalis hergestellter Lösungen, sondern ebenfalls in solchen Lösungen, die mit stark verdünnten Säuren angefertigt worden waren.

Die Frage, um welchen Stoff es sich handeln dürfte, blieb also vorderhand unentschieden, und es darf auch kaum gehofft werden, daß die Frage, bei der weiteren Verwendung des rohen Fibrins als Ausgangsmaterial, sich klären lassen würde. Denn das gewöhnliche mittels Schlagens von Blut gewonnene

Fibrin muß ja sozusagen als ein Bruttoprodukt betrachtet werden, in dem außer dem geronnenen Substrat des Fibrinogens, also außer dem eigentlichen Fibrin, und außer Blutplättchenbestandteilen, außerdem noch Reste von roten und weißen Blutkörperchen und allerhand andere Nebenbestandteile enthalten sind. Es müßte demgemäß sogar mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die vorliegende Substanz von den in dem Fibrin enthaltenen Nebenbestandteilen herrühren könnte.

Es war also unbedingt notwendig, weiterhin mit den einzelnen Bestandteilen des rohen Fibrins zu experimentieren, an erster Stelle mit dem reineren geronnenen Substrat des Fibrinogens, sowie mit isolierten Blutplättchen, und nötigenfalls auch mit weißen und roten Blutzellen. Demgemäß wurde nunmehr auch vorgegangen. Bei den entsprechenden Versuchen hat sich dann zunächst herausgestellt:

Es handelt sich bei dem in Rede stehenden gerinnbaren Stoff nicht um ein Abbauprodukt des rohen Fibrins, sondern tatsächlich um das Fibrin selbst im Sol- und Gelzustande.

Zu diesem Schlusse berechtigte das Resultat von Versuchen, die mit einem in verschiedener Weise gewonnenen reinerem Fibrin angestellt wurden. Indem ich über dementsprechende Versuche in den nächsten Aufsätzen zu berichten beabsichtige, möchte ich diese erste Mitteilung mit der Anführung einiger einschlägiger bzw. ergänzender Versuchsbeispiele abschließen. Weil später von Versuchen mit Fibrinalkalilösungen noch öfters die Rede sein wird, von solchen mit Fibrinsäurelösungen dagegen weniger, so möchte ich an dieser Stelle vorwiegend Beispiele von Versuchen, die mit Fibrinsäurelösungen angestellt worden sind, beibringen.

Vorversuchsbeispiele.

A. Versuche mit Fibrinalkalilösungen.

1. Zu 500 ccm einer konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,3 %iger Natronlauge wurde in Teilen, unter Rühren mit einem Glasstabe, 0,5 %ige Orthophosphor-

[1]) Die Versuche sind sämtlich, wenn nicht anders erwähnt, bei Zimmertemperatur angestellt worden.

säure hinzugefügt, bis die Gesamtflüssigkeit eine noch schwache alkalische Reaktion zeigte. Die Flüssigkeit ist dabei milchig trübe geworden, es liegt also eine äußerst feine Suspension vor (Suspension A).

a) Zu 100 ccm der Suspension A hinzugegeben 2 Tropfen ac. acet. dil. Es entstand dabei grobflockiger Niederschlag, der sich nicht wieder löste. Der Niederschlag wird sofort mittels Kolierens gesammelt und in Wasser in großem Übermaß verteilt. Die Substanz löst sich dabei nicht. Nach dreimaligem Wiederholen des Auswaschens und Kolierens wird das Material in Kalkwasser verteilt, in dem es sich zusehends in eine gallertige Masse verwandelt, während nach 24 Stunden eine klare Lösung entstanden ist. Zu letzterer Lösung wurde dann unter Rühren hinzugefügt: 1 $^0/_0$ige H_3PO_4, bis ein bleibender Niederschlag gebildet wurde. Der Niederschlag wurde mit einem Glasstabe in der Flüssigkeit fein verteilt (Suspension B). Zu je 10 ccm der Suspension B wurde hinzugesetzt:

α) Labessenz (sauer) 1 Tropfen.

β) Gekochte Labessenz (sauer) 1 Tropfen.

Nach 30 Minuten (im Brutschrank 37°): In α und β Gerinnung.

b) Zu je 50 ccm der Suspension A hinzugefügt:

α) Labessenz (sauer) 1 Tropfen.

β) Gekochte Labessenz (sauer) 1 Tropfen.

Resultat nach 6 Stunden (Brutschrank 37°): Beide Suspensionen fast unverändert. Es stellte sich heraus, daß die Reaktion der Suspensionen noch eine äußerst schwach alkalische war. Zu α) und in β) wurden nunmehr hinzugegeben: 10 ccm einer 1 $^0/_0$igen $CaCl_2$-Lösung. Sofort in beiden Proben grobflockiger Niederschlag, der sich in einigen Minuten setzt. Proben aufs neue im Brutschrank. Nach 30 Minuten: In beiden Proben haben sich die Niederschlagssäulen in feste „Kuchen" verwandelt.

c) Zu 80 ccm der Suspension A hinzugefügt: 6 ccm einer 1 $^0/_0$igen $CaCl_2$-Lösung. Der entstehende grobflockige Niederschlag wird sofort mit einem Glasstabe fein verteilt (Suspension B). Zu je 20 ccm der Suspension B hinzugesetzt: Labessenz, gekochte Labessenz, an sich und mit je 2 ccm einer

0,2 %igen HCl-Verdünnung. Resultat in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Versuchs-flüssigkeit	Zusatzflüssigkeit	Resultat (Brutschrank 37°) nach	
		30 Min.	6 Std.
Suspension B. 20 ccm	Labessenz (sauer) 2 Tropfen	Kuchen	Wie zuvor
do.	Gekochte Labessenz (sauer) 2 Tropfen	Klümperige Masse	do.
do.	Labessenz (sauer) 2 Tropfen + 0,2 % HCl 2 ccm	Fadennetzwerk	Fädchen verschwunden, trübe Flüssigkeit (Pepsinwirkung!)
do.	Gekochte Labessenz (sauer) 2 Tropfen + 0,2 % HCl 2 ccm	do.	Wie zuvor

2. Eine mäßig konzentrierte und filtrierte Lösung von rohem Fibrin in 0,5 %iger NaOH war nach dem Filtrieren noch 2 Tage in offener Porzellanschale stehen geblieben. Nunmehr zu 100 ccm der Lösung hinzugesetzt, in Schüssen ohne Rühren: 20 %ige Orthophosphorsäure. Es entsteht dabei ein weißer „Schaum", der an die Oberfläche der Flüssigkeit steigt. Der „Schaum" wurde abgeschöpft und in ein Becherglas überführt. Der „Schaum" hat saure Reaktion, die hinterbliebene Flüssigkeit reagiert äußerst schwach alkalisch. Noch 3 Stunden sich selbst überlassen, hat sich der „Schaum" in eine zusammengezogene schwammartige Masse verwandelt, während Flüssigkeit „ausgepreßt" worden war. Resultat der mikroskopischen Untersuchung: Die schwammartige Masse ist der Hauptsache nach aus einem Faserwerk zusammengesetzt.

3. Eine in einer verschlossenen Flasche hergestellte Lösung von rohem Fibrin in 0,5 %iger NaOH wurde sofort filtriert und für die folgenden Versuche verwendet.

a) Zu 100 ccm des Filtrats hinzugesetzt: 20 %iges H_3PO_4, in Schüssen ohne Rühren, bis bleibender Niederschlag entstand. Keine nennenswerte Schaumbildung. Nach 3 Stunden hat sich der Niederschlag in eine klümperige Masse verwandelt, in der sich bei der mikroskopischen Untersuchung Faden erkennen ließen.

b) Zu 100 ccm des Filtrats hinzugefügt: 5 ccm einer konzentrierten $NaHCO_3$-Lösung. Sodann H_3PO_4, wie in a). Stark schäumender Niederschlag, der zur Oberfläche steigt. Der „Schaum“ wird abgeschöpft und in ein Becherglas gebracht. Noch 3 Stunden sich selbst überlassen, hat sich der „Schaum“ in eine Scheibe bzw. Kuchen verwandelt, der auf der ausgepreßten Flüssigkeit schwamm, einem kleinen „Käse“ ähnlich. Mikroskop: Grobe und feine Fasern.

4. Auf den Boden eines Becherglases wurde ein Stückchen Metaphosphorsäure in Substanz gelegt. Dann wurden mit Vorsicht 50 ccm einer mäßig konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,3 %iger NaOH hineingebracht. Nach einigen Minuten entstand ein Niederschlag um den festen Metaphosphorsäuresplitter herum. Nach 15 Minuten fand sich in der Nähe der Splitter ein dichtes Fädchennetzwerk. Nach 30 Minuten hatte sich dieses Fädchennetzwerk vergrößert, während einzelne Fäden, von diesem Knäuel ausgehend, in die weiter nach oben liegenden Schichten der Flüssigkeit ragten. Nach 2 Stunden war die untere Hälfte der Flüssigkeit ganz von einem Fadennetzwerk durchwebt, während sich in die oberen Schichten nur vereinzelt Fädchen vorfanden, die meistenteils nicht frei in der Flüssigkeit schwebten, sondern an der Glaswand hafteten.

Dergleichen Versuche lassen sich in allerhand Weise modifizieren, man bekommt dabei unter Umständen sehr hübsche „wachsende Gebilde“ zu Gesicht, namentlich dann, wenn man für derartige „Spielereien“ (oder dürfte es sich hier bei dieser organischen Substanz, die „wächst“, vielleicht um mehr als eine Spielerei handeln?) Lösungen verwendet, die mit einem reineren Fibrin hergestellt worden sind.

5. Zu einer konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,3 % NaOH, welche Lösung nach dem Filtrieren noch 5 Tage in einem zugedeckten Gefäß stehen geblieben war (dergleichen Lösungen bleiben, wie diesem Versuch zu entnehmen wäre, sehr lange unverändert haltbar), wurde 1 % H_3PO_4 hinzugefügt in Schüssen unter stetem Rühren, soviel bis die Flüssigkeit nunmehr deutlich sauer war. Vorübergehend entstandene Niederschläge hatten sich wieder gelöst. Sodann wurde zu dieser sauren Flüssigkeit verdünnte Natron-

lauge hinzugesetzt, unter fortwährendem Rühren, soviel bis die Reaktion deutlich alkalisch geworden war. Auch bei dieser Prozedur war ein vorübergehend entstandener Niederschlag wieder in Lösung gegangen. Zu letzterer alkalischen Lösung wurde nun wieder Orthophosphorsäure hinzugesetzt, diesmal jedoch nur so viel, bis ein bleibender Niederschlag entstand. Das Präcipitat wurde sofort mittels Kolierens gesammelt und in destilliertem Wasser in großem Übermaß verteilt. Nach 3maligem Auswaschen in Wasser und Kolieren (es ging in diesem Falle ein Teil des Materials dabei verloren, offenbar weil es sich teilweise löste) wurde die übrigbleibende Substanz in verdünntem Ammoniak[1]) verteilt, in dem sie sich bald löste. Die ammoniakalische Lösung (A) wurde zu untenstehenden Versuchen verwendet.

a) Zu 10 ccm der Lösung A wurden 10 ccm 20°/₀ HCl hinzugefügt. Sofort Präcipitat, das nach einiger Zeit, sich selbst überlassen, sich in ein schönes Fadennetzwerk verwandelt hatte. Reaktion der Flüssigkeit stark sauer.

b) 10 ccm der Lösung A wurden gekocht. Die Flüssigkeit blieb dabei klar. Sodann wurden zu 10 ccm dieser gekochten Lösung, nachdem sie abgekühlt war, 10 ccm 20°/₀ HCl hinzugefügt. Sofort Niederschlag, der sich auch in diesem Falle nach einiger Zeit in ein Fadennetzwerk verwandelte, jedoch weniger schnell wie in a). Während das Fadennetzwerk in a) die ganze Flüssigkeit durchwebte, fand sich in b) das Netzwerk (das außerdem gröber aussah) hauptsächlich in den unteren Schichten der Flüssigkeit.

c) Zu 10 ccm der Lösung A wie zuvor 10 ccm 20°/₀ HCl hinzugefügt. Sofort Niederschlag. Reaktion stark sauer. Das Versuchsröhrchen wurde in den Brutschrank bei 37° gestellt. Nach 50 Minuten: Kein Netzwerk, sondern gleichmäßig trübe Flüssigkeit! [Unterschied gegen a), welcher Versuch bei Zimmertemperatur angestellt worden war.]

d) Zu 20 ccm der Lösung A wurden 5 ccm einer 0,4°/₀igen $CaCl_2$-Lösung hinzugesetzt. Kaum Niederschlag, nur Opalescenz. Letztere Flüssigkeit nunmehr mit 25 ccm 20°/₀iger HCl versetzt. Sofort starker Niederschlag. Reaktion stark sauer. Prä-

[1]) Die Stärke der Verdünnung nicht notiert.

cipitat mittels Glasstab gleichmäßig in der Flüssigkeit verteilt, sodann die Suspension zu gleichen Hälften in zwei Bechergläschen überführt. Die eine Hälfte wird bei Zimmertemperatur sich selber überlassen, die zweite Hälfte in den Brutschrank bei 37° gestellt. Nach 30 Minuten in beiden Proben schönes Fädchennetzwerk! (Schützende Wirkung des Calciums in Hinsicht zu der zerlegenden Wirkung der mäßig stark konzentrierten Salzsäure, bei Körpertemperatur!)

B. Versuche mit Fibrin-Säurelösungen.

1. Zu einer konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,5 %iger Orthophosphorsäure wurde, zuerst in Schüssen, dann weiter tropfenweise, verdünnte NaOH-Lösung hinzugefügt. Es entstand dabei schließlich um den neutralen Punkt herum ein bleibender Niederschlag. Der Niederschlag wurde wiederholt in Wasser gewaschen und jedesmal mittels Kolierens gesammelt, und dann in 0,2 % NaOH verteilt, in der er sich bald löste (Lösung A).

a) Zu 20 ccm der Lösung A wurden 10 Tropfen einer 0,4 %igen $CaCl_2$-Lösung hinzugesetzt. Die Flüssigkeit wird dabei anfangs etwas trübe, jedoch nach einigem Schütteln wieder klar (Lösung B). Zu je 10 ccm der Lösung B hinzugefügt:

α) Labessenz (sauer) 2 Tropfen;

β) gekochte Labessenz (sauer) 2 Tropfen.

α und β sodann in den Brutschrank bei 37° gestellt. Nach 30 Minuten in α und β zartes Fädchenwerk. Reaktion der Flüssigkeiten sehr schwach alkalisch.

b) Zu 20 ccm der Lösung A 10 ccm einer 0,4 %igen $CaCl_2$-Lösung hinzugesetzt. Nunmehr äußerst feinflockiges Präcipitat. Suspension bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach 2 Stunden äußerst zartes Fädchennetzwerk. Reaktion der Flüssigkeit alkalisch.

Bemerkung: Auch in a) war das Auftreten der Gerinnung in Fädchenform offenbar dem Einflusse des $CaCl_2$ mit zuzuschreiben.

2. Eine konzentrierte und filtrierte Lösung von rohem Fibrin in 0,5 %iger H_3PO_4 wurde mit einem gleichen Teile einer gesättigten Kochsalzlösung versetzt. Ausgiebiger Niederschlag, der sofort mittels Kolierens gesammelt und in eine

größere Menge Wasser übertragen wird. Diese Prozedur des Kolierens und Auswaschens wird dann noch einmal wiederholt, während das übriggebliebene Material (es war ein beträchtlicher Teil des Materials bei diesen Manipulationen verloren gegangen) in einer 0,1 $^0/_0$igen NaOH-Lösung verteilt wurde. Es trat dabei keine Lösung ein. (Die Substanz war trotz des Auswaschens noch schwach sauer, diesem Umstande war es auch wohl zuzuschreiben, daß von dem Wasser ein Teil des Materials wieder gelöst worden war.) Erst nachdem mehr Alkali zugesetzt worden war, so daß die Flüssigkeit bleibend schwach alkalische Reaktion zeigte, trat Lösung ein, jedoch erst allmählich (Lösung A).

Zu 40 ccm der Lösung A hinzugefügt: 10 ccm einer 0,4 $^0/_0$igen $CaCl_2$-Lösung. Äußerst feinflockiger Niederschlag (Suspension B).

Zu je 20 ccm der Suspension B hinzugesetzt:

α) Labessenz (sauer) 1 Tropfen;

β) gekochte Labessenz (sauer) 1 Tropfen.

Nach 25 Minuten (Brutschrank, 37°): In α fester Kuchen, in β klümperige Masse.

3. Zu einer konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,5 $^0/_0$iger Orthophosphorsäure [welche Lösung, nachdem Verflüssigung eingetreten war, noch während 8 Tagen in einem mit einer Glasplatte zugedeckten Becherglase stehen geblieben war[1])] wurde so viel verdünnte Natronlauge hinzugesetzt, bis ein ausgiebiges, bleibendes Präcipitat entstand. Der Niederschlag wurde wiederholt in Wasser gewaschen, ein Substanzverlust fand dabei in diesem Falle kaum statt. Das gewaschene Material wurde sodann in 0,1 $^0/_0$iger Orthophosphorsäure verteilt, es bildete sich dabei nach einiger Zeit eine klare Lösung (Lösung A).

a) Zu einem Teil der Lösung A hinzugefügt: Sehr verdünnte Natronlauge, bis (um den neutralen Punkt herum) Ausflockung eintrat. Indem die Probe weiter sich selbst überlassen

---

[1]) Daß in diesem und anderen Fällen das Material nicht eher verarbeitet wurde, fand einfach seinen Grund in dem Umstande, daß mir die Zeit gefehlt hatte, um das Material früher in Angriff nehmen zu können.

wurde (bei Zimmertemperatur), wurde nach 2 Stunden die Anwesenheit eines Fadengerinnsels konstatiert.

b) Zu einem zweiten Teil der Lösung A hinzugesetzt: Rinderblutserum zu gleichen Teilen. Nach 2 Stunden (vielleicht auch schon früher, die Proben wurden erst nach 2 Stunden kontrolliert) war ein schönes Fadennetzwerk vorhanden, das sich der Hauptsache nach auf einen Teil der Innenwand des Probierröhrchens zurückgezogen hatte, während außerdem einzelne zarte Fädchen die Flüssigkeit durchwebten.

c) Ein dritter Teil der Lösung A wurde gekocht. Mit dieser gekochten Lösung wurde dieselbe Probe vorgenommen wie unter a) und b) beschrieben, mit einem ähnlichen Resultat.

4. Zu einer mäßig konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,5 % H_3PO_4 wird hinzugefügt, und zwar tropfenweise, eine 10 %ige Lösung von Na_2HPO_4. Starkes Präcipitat um den neutralen Punkt herum. Das Präcipitat wurde sofort mittels Zentrifugierens gesammelt, dann mit Hilfe des Zentrifugierens wiederholt in Wasser gewaschen und schließlich in 0,05 %iger NaOH-Lösung verteilt. Trübe Suspension. Nach 2 Stunden ist noch keine völlige Lösung eingetreten. Nunmehr wird filtriert, das Filtrat ist ganz klar. Zu dem Filtrat tropfenweise hinzugefügt: Ac. acet. dil., bis Präcipitat entstand. Dieser Niederschlag wird mit Hilfe des Zentrifugierens mehrmals mit Wasser gewaschen und sodann in 0,1 % NaOH verteilt, in der er sich bald glatt löst. Zu 30 ccm der letzteren Lösung hinzugefügt: 10 ccm einer 0,4 %igen $CaCl_2$-Lösung. Trübung. Zu je 10 ccm der letzteren trüben Lösung (Suspension) wurden hinzugesetzt:

α) Labessenz (sauer) 2 Tropfen;

β) gekochte Labessenz (sauer) 2 Tropfen;

γ) Ac. hydrochl. dil. 1 Tropfen.

Nach 30 Minuten (Brutschrank, 37°) fand sich in α, β und γ ein prachtvolles Fädchennetzwerk vor. Die Flüssigkeiten sind von den Fädchen ganz durchwebt, das an sich ein Ganzes bildende Netzwerk haftet an mehreren Stellen mit feinen Einzelfädchen an der Innenwand der Probierröhrchen.

5. Das Filtrat einer sehr konzentrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,5 % H_3PO_4 wurde mit Aq. dest. 5fach verdünnt

(Lösung A). Die Hälfte dieser verdünnten Lösung wurde gekocht (Lösung B). Mit A und B wurden dann eine Anzahl Proben angestellt, die in der Tabelle II zusammengestellt worden sind.

Tabelle II.

Versuchsflüssigkeit	Zusatzflüssigkeit	Resultat (bei Zimmertemperatur)	
		sofort	nach 3 Stunden
Lösung A	1,25 %ige Na_2HPO_4-Lösung, bis um den neutralen Punkt herum	Präcipitat	Fadengerüst, das sich über die ganze Flüssigkeitssäule ausdehnt
„ B	do.	do.	Fadengerüst, das sich vorwiegend in d. unteren Flüssigkeitsschichten vorfindet
„ A	Gesättigte NaCl-Lösung zu gleichen Teilen	do.	Grobes Fadenwerk
„ B	do.	do.	do.
„ A	15 %ige HCl zu gleichen Teilen	Koagulum	Koagulum; mikroskop.: Fadennetzwerk
„ B	do.	do.	do.
„ A	Blutserum zu gleichen Teilen	schwach trüb	Fadengerüst
„ B	do.	do.	do.

6. Zu einer konzentrierten und filtrierten Lösung von rohem Fibrin in 0,5 % H_3PO_4 wurde so viel verdünnte Natronlauge hinzugesetzt, bis ein ausgiebiger Niederschlag entstand. Sodann wurde noch etwas Natronlauge hinzugesetzt, unter Rühren, bis die Reaktion äußerst schwach, aber mit Lackmuspapier nachweisbar alkalisch geworden war. Das Präcipitat war dabei in einen äußerst fein verteilten Zustand übergegangen, es hatte sich also eine äußerst feine Suspension, keine Lösung gebildet. Diese Suspension wurde dann 3fach mit destilliertem Wasser verdünnt, während nachher noch soviel verdünnte Natronlauge hinzugetropft wurde, daß die Trübung ganz verschwand. Nun wurde filtriert; das Filtrat war ganz klar und sehr deutlich alkalisch. Mit letzterer Lösung (A) wurden nun einige Versuche angestellt, die in der Tabelle III zusammengestellt worden sind.

Tabelle III.

Versuchs-flüssigkeit	Zusatzflüssigkeit	Resultat (Zimmertemperatur)	
		sofort bzw. nach einigen Min.	nach 1 Std.
Lösung A 20 ccm	Serum 10 ccm	0	0 [1])
do.	HCl 1,126 D. 10 ccm	starkes Präcipitat	dichte Fadengerüstsäule
do.	HNO_3 1,2 D. 10 ccm	do.	do.
do.	HPO_3 in Substanzsplittern	Niederschlag um den Splitter herum	Fadennetzwerk
do.	H_3PO_4 20%ige Lösung 10 ccm	0	0
do.	Ac. acet. dil. 20 ccm	0	0
do.	HCl 1%ig bis neutral. Reaktion [2])	Trübung	zartes Fadennetzwerk
do.	HCl 1%ig bis deutl. saure Reakt.	0	0
do.	Ac. acet. 1%ig bis neutral. Reaktion [2])	Trübung	zartes Fadennetzwerk
do.	Ac. acet. 1%ig bis deutlich saure Reaktion	0	0
do.	N_3PO_4 1%ig bis neutrale Reaktion [2])	Trübung	zartes Fadennetzwerk

[1]) Daß unter Serumzusatz in diesem Falle keine Gerinnung eintrat, hat wahrscheinlich, wie aus späteren Ergebnissen gefolgert werden darf, seine Ursache darin, daß die alkalische Reaktion eine zu starke war.

[2]) Mit „neutraler Reaktion" wird gemeint: um den neutralen Punkt herum.

Die Wasserstoffionenkonzentration der Gewebssäfte.

Von

L. Michaelis und A. Kramsztyk.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban zu Berlin.)

(*Eingegangen am 26. März 1914.*)

Über die Wasserstoffionenkonzentration der Gewebssäfte weiß man, soweit uns bekannt ist, noch nichts Genaues. Man wird nicht fehlgehen, die landläufige Ansicht dahin darzustellen, die [H˙] der Gewebssäfte sei gleich der des Blutes, mit der ja ein stetiger Austausch vorhanden ist. Als einzige Ausnahme kann man wohl erwähnen, daß Hasselbalch[1]), sowie L. Michaelis und Dawidoff[2]) den Inhalt der roten Blutkörperchen weniger alkalisch als das Blutplasma fanden. Die bisherige Unkenntnis beruht auf der Schwierigkeit, den Gewebssaft der elektrometrischen Messung zugänglich zu machen. Nachdem wir aber wissen, daß die [H˙] der durch Puffer fixierten Flüssigkeiten durch Verdünnung mit reinem Wasser nicht oder kaum geändert wird, ist eigentlich die Methode zur Erforschung der Gewebsalkalität gegeben: man braucht nur einen wässerigen Extrakt der Gewebe der elektrometrischen Messung zu unterziehen. Dies ist unseres Wissens bisher noch nicht geschehen. Wenn man Leber, Niere, Herz, Pankreas von Hund, Katze, Meerschweinchen, Kaninchen, Maus, Ratte frisch zerkleinert, $^{1}/_{4}$ bis $^{1}/_{2}$ Stunde mit Wasser extrahiert und elektrometrisch den leicht abzentrifugierten Extrakt mißt, so erhält man übereinstimmend mit nur unbedeutenden Schwankungen $[H^{\cdot}] = 2$ bis $4 \cdot 10^{-7}$, also auf keinen Fall eine alkalische, sondern eine genau neutrale oder sogar etwas saure Reaktion. (Die neutrale

[1]) Hasselbalch, diese Zeitschr. 30, 317, 1911.

[2]) L. Michaelis und W. Dawidoff, diese Zeitschr. 46, 131, 1912.

Reaktion für 18° ist $[H^{\cdot}] = 0{,}84 \cdot 10^{-7}$, für 38° $[H^{\cdot}] = 1{,}7 \cdot 10^{-7}$.) Nur der quergestreifte Muskel gibt den noch saureren Wert von $[H^{\cdot}] = 5 \cdot 10^{-7}$.

Diese Messungen sind nun insofern mit einem Fehler behaftet, als in den Geweben nach dem Tode des Tieres die Fermente weiterwirken und Säuren, vor allem CO_2 und Milchsäure, besonders im Muskel, produzieren. Die gemessenen Werte sind daher zweifellos saurer, als sie dem lebenden Gewebe entsprechen, wo durch die Blutzirkulation die CO_2 immer wieder abgeführt wird, und wo die Milchsäure zu der viel schwächeren CO_2 bald weiteroxydiert wird. Daß die Werte so gleichmäßig sind, beweist, daß die säurebildenden Fermente nach Erreichung dieses Wertes nicht weiter säuernd wirken. Wir verweisen hier auf eine frühere Beobachtung von L. Michaelis und Marcora[1]), daß die spontane Säuerung einer Kultur von Bact. coli bei Gegenwart beliebiger Mengen von Milchzucker immer nur bis zu einer ganz bestimmten $[H^{\cdot}]$ (nicht aber bis zur Bildung einer stets gleichen Menge von Milchsäure) fortschreitet und dann stehen bleibt.

Die so häufig erwiesene Abhängigkeit der Fermentwirkung von der $[H^{\cdot}]$ muß bei einem Ferment, das die Bildung von Säuren veranlaßt, zu einer automatischen Hemmung der Fermentwirkung führen, sobald eine gewisse Säuremenge produziert worden ist.

Wenn wir nun die sofort nach dem Tode herausgenommenen Organe durch Siedehitze abtöten, so vernichten wir diese säurebildenden Fermente. Der Extrakt der erst gekochten, dann zerkleinerten Organe liefert also eine nach dieser Richtung hin fehlerfreie Messung. Aber wir begehen hier einen anderen Fehler im entgegengesetzten Sinne, denn durch das Kochen treiben wir CO_2 aus. Daß außerdem durch die Koagulation des Eiweißes die Reaktion nach den Untersuchungen von Sörensen und Jürgensen[2]) sowie von Miß Chick und Martin[3]) außerdem noch etwas alkalischer wird, ist ein zweiter Fehler im gleichen Sinne, der allerdings praktisch kaum ins

---

[1]) L. Michaelis und F. Marcora, Die Säureproduktivität des Bact. coli. Zeitschr. f. Immun.-Forsch. **14**, 170, 1912.

[2]) Sörensen und Jürgensen, diese Zeitschr. **31**, 397, 1911.

[3]) Chick und Martin, Journ. of Physiol. **40**, 404, 1910; **43**, 1, 1911.

Gewicht fällt. Denn erstens ist die Abnahme der [H˙] bei der Koagulation an sich äußerst klein, zweitens fällt sie bei einer so pufferreichen Lösung wie einem Organextrakt noch weniger ins Gewicht. Auf jeden Fall kann der Fehler bei der Messung eines aus dem gekochten Organ hergestellten Extraktes nur in dem Sinne einer zu kleinen [H˙] liegen. Es zeigte sich nun, daß alle genannten Organe, den quergestreiften Muskel eingeschlossen, wenn sie frisch entnommen zunächst gekocht worden sind, einen Extrakt liefern, dessen [H˙] fast genau und nur mit unbedeutenden Schwankungen $1{,}0 \cdot 10^{-7}$ beträgt.

Wir sind also in der angenehmen Lage, die Reaktion des Gewebssaftes zwischen zwei recht nahe beieinander liegenden Grenzen einengen zu können, und dürfen, ohne einen merklichen Fehler zu begehen, die [H˙] der Gewebssäfte, so wie sie im lebenden Organismus vorhanden ist, gleich $1{,}5 \cdot 10^{-7}$ ansetzen, das ist genau neutrale Reaktion, jedenfalls sehr deutlich verschieden von der [H˙] des Blutes (bei 38° $0{,}45 \cdot 10^{-7}$).

Aus dem Umstand, daß das Kochen einen so kleinen Einfluß hat, können wir ferner den Schluß ziehen, daß die Regulation der [H˙] nur zum kleineren Teile auf einem Carbonatgemisch und überwiegend auf dem Phosphatgemisch beruht, also umgekehrt wie im Blut. Läßt man ein Organ 1 Stunde nach dem Tode liegen und macht dann einen Extrakt einerseits von einer Probe dieses Organs direkt, andererseits von einer Probe des nachträglich gekochten Organs, so unterscheiden sich diese beiden Werte nur wenig, was den geringen Einfluß des Entweichens von CO_2 noch deutlicher beweist. Eine 1 Stunde nach dem Tode gekochte Kaninchenleber ergab $p_H = 6{,}41$; nach $1\,^1/_2$ Stunden gekocht ebenfalls 6,41. Ungekochte Lebern ergeben unter gleichen Bedingungen 6,4 bis 6,6.

Nimmt man die Messung des Gewebsextraktes bei 18° oder bei 38° vor, so erhält man einen nur unwesentlichen Unterschied, während bei Blut ein deutlicher Unterschied gefunden wurde, indem p_H bei 38° um rund 0,2 kleiner ist als bei 18°[1]).

Nachträglich erscheint der Befund, daß die Gewebe weniger alkalisch sind als das Blut, gar nicht so unplausibel. Denn im Stoffwechsel entstehen in jedem Augenblick Säuren in den Ge-

---

[1]) Michaelis und Dawidoff, l. c.

weben, und wie sollte das Blut seine saugende Wirkung auf die Säuren des Gewebes ausüben, wenn nicht ein Säuregefälle in der Richtung vom Gewebe zum Blut bestände? Vorauszusehen war allerdings nicht, daß dieses Gefälle so bedeutend sei.

Da die in das Blut gelangten Säuren sofort wieder von der Lunge und der Niere eliminiert werden, so ist es auch verständlich, daß die [H˙] des Blutes sich so konstant erhält. Der Mechanismus dieser Regulation der [H˙] des Blutes beruht einerseits auf der Reizbarkeit des Atemzentrums durch jede über die Norm erhöhte [H˙], wie Hasselbalch gezeigt hat, andererseits auf der Fähigkeit der Niere, die von ihr auf jeden Fall ausgeschiedenen Phosphate je nach Bedarf in wechselnden relativen Mengen in Gestalt von primärem oder sekundärem Natriumphosphat auszuscheiden. Daher ist nicht die jeweilige [H˙] des Blutes ein Spiegel für die [H˙] der Gewebe; eher ist dies schon die [H˙] des Harns, obwohl man die Einflüsse der durch die Nahrung direkt aus dem Darm in das Blut und dann sofort, mit völliger oder teilweiser Umgehung der Organe, durch die Nieren ausgeschiedener Säuren oder Alkalien nicht vergessen darf. Im Hungerzustande aber gibt uns der Harn vielleicht ein besseres Bild von der Reaktion der Gewebe als das Blut. Und so ist es auch sehr wahrscheinlich, daß beim acidotischen Diabetes die im Blute vermißte Erhöhung[1]) der [H˙] über den normalen Wert in den Geweben zu suchen ist.

Die Technik der Untersuchungen ist sehr einfach. Das Tier wird entblutet (Äthernarkose erwies sich als belanglos und daher erlaubt). Das Organ wird sofort herausgenommen, zerschnitten, im Mörser zu einer Pulpa zerstampft und mit etwa der 3 bis 10fachen Menge dest. Wassers $^1/_2$ Stunde lang geschüttelt. Die Menge des Wassers erwies sich innerhalb weiter Grenzen als belanglos, wie die Theorie voraussehen ließ. Dann zentrifugiert man leicht ab, so daß die groben Brocken entfernt werden, und mißt die homogen getrübte Flüssigkeit mit der von mir für Blut ausgearbeiteten Methode[2]). Die Einstellung des Potentials geschieht prompt und scharf.

Bei der Untersuchung der gekochten Organe verfährt man

[1]) Benedikt, Arch. f. d. ges. Physiol. 115. — J. Masel, Zeitschr. f. klin. Med. 79, 1, 1913.

[2]) Michaelis und Dawidoff, l. c.

folgendermaßen: Man hält eine Schale mit siedendem Wasser vorrätig, dessen Menge etwa die gleiche wie die oben angegebene ist. In dieses wirft man das ganz frische Organ hinein. Nach etwa $^1/_2$ Minute, wenn es durch und durch koaguliert ist, nimmt man das Organ aus dem Wasser heraus, zerstößt es fein im Mörser und schüttelt es dann mit demselben Wasser, in dem es gekocht worden ist, $^1/_2$ Stunde und verfährt weiter wie oben angegeben. Die Resultate der Messungen bei Zimmertemperatur zwischen 16 und 20° sind folgende:

		p_H Roh	p_H Gekocht
Maus:	Leber	6,62	—
Meerschweinchen:	Leber	6,40	—
		6,62	7,04
		6,69	7,03
		6,61	6,92
		6,78	—
		6,45	6,93
		—	6,82
	Herz	6,69	—
		—	6,96
		6,53	—
	Oberschenkelmuskel	6,05	—
Ratte:	Leber	6,56	6,92
	Niere	6,59	—
Kaninchen:	Leber	6,50	6,99
Hund:	Leber	6,46	7,03
	Pankreas	6,73	7,06
	Herz	—	6,82
	Niere	—	6,98
Katze:	Leber	—	7,02
	Herz	6,63	7,03
	Oberschenkelmuskel	6,02	6,91

Es ergibt sich hieraus als durchschnittlicher p_H für alle Extrakte der gekochten Organe 7,0 ($[H^·] = 1 \cdot 10^{-7}$); für die rohen, postmortal weitergesäuerten Organe ergibt sich für Leber, Niere, Herz p_H = etwa 6,5, $[H^·] = 3 \cdot 10^{-7}$, nur der quergestreifte Muskel ergibt einen $p_H = 6{,}0$, $[H^·] = 1 \cdot 10^{-6}$. Da die Organe alle etwas bluthaltig sind, so sind die erhaltenen Werte wohl

noch eine Kleinigkeit weniger sauer, als der reine Gewebssaft wäre.

Alle diese Messungen sind bei Zimmertemperatur ausgeführt. Einige vergleichende Messungen bei 18° und ca. 37° ergaben, daß die [H˙] innerhalb dieses Temperaturintervalles sich so unbedeutend verschiebt, daß in Anbetracht der hierbei überhaupt gezogenen Genauigkeitsgrenze die erhaltenen p_H-Werte auch für Körpertemperatur gültig sind.

Zusammenfassung.

Die Reaktion des aus den Organen extrahierbaren Saftes ist nicht alkalisch wie die des Blutes, sondern fast ganz genau neutral. Durch postmortale Säurebildung wird in den überlebenden Organen die Reaktion ganz leicht sauer, am stärksten im quergestreiften Muskel. Aber auch bei Ausschaltung dieser postmortalen Säuerung, in den Extrakten sofort gekochter Organe, ist die Reaktion niemals alkalisch. Der wahrscheinlichste physiologische Wert für die [H˙] der Gewebssäfte während des Lebens dürfte $1{,}5 \cdot 10^{-7}$ sein.

Weitere Versuche über die stickstoffsparende Wirkung von Natriumacetat beim Wiederkäuer.

Von

Ernst Peschek.

(Aus dem Zootechnischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 29. März 1914.)

Mit 8 Figuren im Text.

Meine zahlreichen Versuche am Fleischfresser hatten ergeben, daß Natriumacetat, einem geeigneten Grundfutter zugelegt, den Stickstoffumsatz bedeutend einzuschränken vermag. Es hatte sich ferner gezeigt, daß derartige Stickstoffsparungen ganz besonders dann eintraten, wenn die den Tieren gereichten Eiweißmengen nicht ausreichend waren, um sie ins Stickstoffgleichgewicht zu bringen. Aus diesen Versuchen hatte sich der Schluß ergeben, daß es keineswegs bewiesen ist, daß es sich bei ähnlichen Stickstoffsparungen, die mit Ammoniaksalzen erzielt wurden, wie Grafe besonders glaubt, um Synthesen von stickstofffreien Nährstoffen und dem Stickstoff der Salze zu Eiweiß oder diesem ähnlichen Komplexen handelt, da ja meine Versuche und die von Abderhalden (Stickstoffsparung mit Natriumacetat beim Schweine und mit Natriumnitrat beim Hunde, trotzdem im letzteren Falle alle Salpetersäure wieder im Harn ausgeschieden worden war) deutlich zeigen, daß auch das stickstofffreie essigsaure Natron die gleiche Wirkung, ja zum Teil in viel größerem Umfange hat. Da die Verdauungsvorgänge beim Wiederkäuer nun wesentlich anders sind als beim Hunde und andererseits als erwiesen gelten kann, daß die mit Amiden und Ammoniaksalzen bei diesen Tieren gefundenen Stickstoffsparungen den Bakterien in ihrem Verdauungstraktus im wesentlichen zuzuschreiben sind, war es natür-

lich von Wichtigkeit, zu prüfen, ob sich unter der Einwirkung von Natriumacetat ähnlich wie beim Fleischfresser auch beim Wiederkäuer Stickstoffsparungen bewirken lassen. Über derartige Versuche, die ich in meiner letzten Arbeit in Aussicht stellte, kann ich heute berichten.

Ich habe 2 Versuche mit je 2 Hammeln durchgeführt. Über die Versuchstechnik kann ich mich kurz fassen, da ich mich im allgemeinen an die üblichen Vorschriften gehalten habe. Die Tiere wurden in Versuchsständen gehalten, die für quantitative Aufsammlung von Kot und Harn sowie für eine Kontrolle des quantitativen Futterverzehrs eingerichtet waren. Der Harn wurde in einer ca. 3 l fassenden, mit Einteilung von 100 zu 100 ccm versehenen Flasche, die mit Salzsäure beschickt war, aufgefangen. Täglich wurden früh um 8 Uhr die Kotbeutel geleert, die Harnmenge notiert und die Harntrichter mit destilliertem Wasser ausgespült. Der Harn wurde, je nach der Menge, auf ein bestimmtes Volumen (2, 3, 4 auch 5 l) mit Wasser verdünnt und in einem aliquoten Teil der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Die gesamte Kotmenge, die am Tage in einer offenen großen Porzellanschale gesammelt wurde, plus der früh um 8 Uhr noch im Kotbeutel befindlichen, wurde in bedecktem Glase gewogen, in einer großen Reibschale schnell zerrieben und 2 Portionen davon, 5, 10 auch 20% der Gesamtmenge entsprechend abgewogen. Eine Probe wurde auf dem Wasserbade getrocknet und über Nacht erkalten gelassen. Frühmorgens wurde der lufttrockene Kot in ein tariertes, verschließbares Gefäß übergeführt, in dem die zu einer Periode gehörende tägliche Menge gesammelt wurde. Durch Wägung ergab sich die der betreffenden Periode zugehörige lufttrockene Kotmasse, in der nach dem Mahlen (Millimetersieb) die absolute Trockensubstanz, das Rohfett, sowie Asche und Rohfaser bestimmt wurden. Die zweite Kotprobe wurde täglich in einem mit Glasplatte bedeckten, tarierten Zylinder eingewogen und mit Salzsäure gut durchfeuchtet. Am Schlusse jeder Periode wurde in einem aliquoten Teile der feuchten, gut durchmischten Masse der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Zur Bestimmung der Trockensubstanz wurden von dem lufttrockenen Kot ca. 5 g in flachen Wägegläschen bis zur Gewichtskonstanz bei 103 bis 105° getrocknet. Zur Bestimmung des Rohfetts wurden je 5 g in flachen Porzellanschalen mit einer Mischung von 1 Teil 25%iger Salzsäure und 20 Teilen 96%igem Alkohol innig vermischt, auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, in Filtrierpapierpatronen eingefüllt und nach dem Trocknen im Glycerintrockenschrank bei 105° mit wasserfreiem Äther in einfachen Fettextraktionsapparaten bis zur Erschöpfung extrahiert. Der in Äther gelöste, filtrierte, eingedunstete, getrocknete und gewogene Extrakt wurde als Rohfett in Rechnung gestellt. Die Rohfaser wurde nach der Weender-Methode und die Rohasche durch vorsichtiges Veraschen in Platinschalen bestimmt.

Die Hammel wurden täglich 3 mal gefüttert, früh 8 Uhr, mittags 12 Uhr und abends 6 Uhr. Wasser bekamen sie in abgemessenen Mengen

ad libitum. Von den Futtermitteln wurden vom Heu und Stroh die täglichen Mengen am Tage der Probenahme in Papiertüten für den ganzen Versuch eingewogen. Erdnußkuchen, Weizenkleie, Stärke, Zucker wurden in verschlossenen Glasflaschen aufbewahrt, um Wasserverluste zu verhindern, und die entsprechende Menge täglich abgewogen. Beim ersten Versuch habe ich die Tiere täglich nach Leerung der Kotbeutel gewogen, beim zweiten Versuche nur das Gewicht am ersten und letzten Versuchstage festgestellt, da mir die täglichen Lebendgewichtszahlen, auch in Anbetracht der Umständlichkeit (die Tiere waren meist sehr unruhig, so daß die Wägung oft sehr schwierig war) für meine Fragestellung nicht wichtig genug erschien. Denn es kam mir ja im wesentlichen darauf an, Stickstoffsparungen durch Analyse der täglichen Harnmengen festzustellen, und größere Gewichtsveränderungen mußten sich schließlich auch zeigen, wenn das Lebendgewicht am Anfang und Ende des Versuchs festgestellt wurde.

Wie bei meinen früheren Versuchen habe ich auch diesmal wieder alle für die Resultate besonders in Betracht kommenden Arbeiten, wie Futterabwiegen, Fütterung, Aufsammlung von Harn und Kot usw., selbst ausgeführt.

Bisher lag nur ein Versuch mit Natriumacetat am Wiederkäuer von Weiske und Flechsig[1]) vor, bei dem die Verfasser eine Steigerung des Stickstoffumsatzes unter der Wirkung des Salzes beobachteten. Da bei diesem Versuch ein sehr enges Nährstoffverhältnis (1 : 3) und überhaupt pro Kilogramm Lebendgewicht viel Eiweiß gefüttert wurde, lag nach meinen Erfahrungen beim Hunde die Vermutung nahe, daß das negative Ergebnis auf die zu reichlich gegebenen Eiweißmengen zurückzuführen ist. Ich wiederholte deshalb zunächst den Weiskeschen Versuch, der zu einem negativen Ergebnis zu führen versprach, mit der Absicht, in einem zweiten Versuche durch entsprechende Erweiterung des Nährstoffverhältnisses und Verminderung der pro Kilogramm Lebendgewicht zu gebenden Eiweißmengen vielleicht doch zu positiven Zahlen zu gelangen.

Versuch 1.

Wiederholung des Versuchs von Weiske und Flechsig.

Hammel I und II. Nährstoffverhältnis etwa 1 : 3.

Pro Kilogramm Lebendgewicht

Hammel I 0,71, Hammel II 0,79 g N.

Von der Zentrale für Viehverwertung (Abteilung Zucht- und Magervieh), Magerviehhof Friedrichsfelde bei Berlin, bekam ich 2 Hammel

[1]) Journ. f. Landw. 37, 225, 1889.

(schlichtwollige Landschafe), die sich seit Monaten auf der dürftigen Weide des Flugplatzes Johannisthal bei Berlin befanden. Die Tiere waren deshalb auch nicht angemästet, also sehr geeignet für diesen Versuch.

Die Analyse der Futtermittel ergab folgende Zahlen:

Rohnährstoffe.

Tabelle I.

Lufttrockene Substanzen	Tr.-Subst. %	Wasser %	N %	Protein %	Fett %	Asche %	Rohfaser %	N-freie Stoffe %
Wiesenheu . . .	87,17	12,83	1,67	10,44	2,92	8,95	25,83	39,03
Erdnußkuchen .	90,47	9,53	7,24	45,25	9,25	4,41	3,77	27,79
Kartoffelstärke .	82,21	17,79	0,22	1,38	—	0,19	—	80,64
Rohrzucker . .	99,95	0,05	—	—	—	—	—	99,95
Natriumacetat .	97,78	2,22	—	—	—	30,50	—	—

Die Tiere bekamen zunächst ein Grundfutter von derselben Zusammensetzung, wie es W. gegeben hatte, dem in der anschließenden 2. Periode steigende Mengen von Natriumacetat zugelegt wurden. Eine gleichfalls anschließende 3. Periode sollte eventuelle Nachwirkungen erkennen lassen.

Vom 10. Mai ab bekamen die Tiere das Grundfutter. Am 21. Mai also nach 11 tägiger Vorfütterung, begann der Versuch, nachdem die Tiere sich an das Geschirr und die Versuchsstände gewöhnt hatten und das Futter gut und vollständig fraßen, so daß eine quantitative Aufsammlung von Harn und Kot und auch richtige Zahlen gesichert waren.

1. Periode.

Grundfutter.

Tabelle II.

	Tr.-Subst. g	Wasser g	N g	Protein g	Fett g	Asche g	Rohfaser g	N-freie Stoffe g
450 g Wiesenheu . .	392,27	57,74	7,52	46,98	13,14	40,28	116,24	175,64
200 g Erdnußkuchen	180,94	19,06	14,48	90,50	18,50	8,82	7,54	55,58
75 g Kartoffelstärke	61,66	13,34	0,17	1,04	—	0,14	—	60,48
30 g Rohrzucker . .	29,99	0,01	—	—	—	—	—	29,99
Nährstoffe pro Tag	664,86	90,15	22,17	138,52	31,64	49,24	123,78	321,69

Außerdem bekamen die Tiere noch täglich 8 g Kochsalz und, wie schon angegeben, Wasser ad libitum.

Hammel I.
Tabelle III.

1913	N-Einnahme g	Natriumacetatzulage g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Harnmenge ccm	Wasser aufgenommen ccm	Leb.-Gew. kg
21.—22. VI.	22,17	0	16,28	+ 5,89	900	1200	30,9
22.—23. „	22,17	0	14,71	+ 7,46	650	1150	30,9
23.—24. „	22,17	0	15,88	+ 6,29	700	1400	31,2
24.—25. „	22,17	0	15,48	+ 6,69	650	1100	31,2
25.—26. „	22,17	0	15,31	+ 6,86	800	1400	31,4
26.—27. „	22,17	0	15,97	+ 6,20	700	1300	31,4
27.—28. „	22,17	0	16,23	+ 5,94	800	1200	31,3
Mittel pro Tag	22,17	0	15,69	+ 6,48	750	1250	31,2

Hammel II.
Tabelle IV.

1913	N-Einnahme g	Natriumacetatzulage g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Harnmenge ccm	Wasser aufgenommen ccm	Leb.-Gew. kg
21.—22. VI.	22,17	0	14,55	+ 7,62	1100	1900	27,2
22.—23. „	22,17	0	14,80	+ 7,37	1000	2000	27,4
23.—24. „	22,17	0	15,31	+ 6,86	1400	2200	27,4
24.—25. „	22,17	0	13,38	+ 8,79	1250	2000	27,5
25.—26. „	22,17	0	15,27	+ 6,90	950	1800	27,7
26.—27. „	22,17	0	13,54	+ 8,63	950	1800	27,9
27.—28. „	22,17	0	13,64	+ 8,53	1050	1900	28,2
Mittel pro Tag	22,17	0	14,36	+ 7,81	1100	1950	27,6

2. Periode.

Grundfutter + steigende Zulagen von Natriumacetat.

Hammel I.
Tabelle V.

1913	N-Einnahme g	Natriumacetatzulage g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Harnmenge ccm	Wasser aufgenommen ccm	Leb.-Gew. kg
28.—29. VI.	22,17	50	16,45	+ 5,72	1350	1900	31,5
29.—30. „	22,17	50	15,59	+ 6,58	1450	1600	31,2
30. VI.—1. VII.	22,17	70	15,66	+ 6,51	1750	2200	31,0
1.—2. „	22,17	70	15,75	+ 6,42	1600	2200	31,1
2.—3. „	22,17	100	15,46	+ 6,71	2350	3000	31,1
3.—4. „	22,17	100	14,49	+ 7,68	2150	2700	31,0
4.—5. „	22,17	100	14,53	+ 7,64	—	2700	31,2
5.—6. „	22,17	100	14,61	+ 7,56	2150	2600	31,1
Mittel pro Tag	22,17	80	15,32	+ 6,85	1850	2400	31,2

Hammel II.

Tabelle VI.

1913	N-Einnahme g	Natriumacetatzulage g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Harnmenge ccm	Wasser aufgenommen ccm	Leb.-Gew. kg
28.—29. VI.	22,17	50	14,91	7,26	1650	2500	28,4
29.—30. „	22,17	50	13,21	8,96	1850	2000	27,9
30. VI.—1. VII.	22,17	70	13,19	8,98	1900	2800	28,2
1.—2. „	22,17	70	13,62	8,55	2100	2600	28,1
2.—3. „	22,17	100	—	—	—	3200	28,0
3.—4. „	22,17	100	12,82	9,35	2350	2900	28,0
4.—5. „	22,17	100	13,41	8,76	—	3600	28,1
5.—6. „	22,17	100	13,15	9,00	3300	3600	—
Mittel pro Tag	22,17	80	13,48	8,69	2200	2900	28,1

3. Periode.

Grundfutter.

Hammel I.

Tabelle VII.

1913	N-Einnahme g	Natriumacetatzulage g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Harnmenge ccm	Wasser aufgenommen ccm	Leb.-Gew. kg
6.— 7. VII.	22,17	0	13,43	+ 8,74	800	1100	—
7.— 8. „	22,17	0	15,11	+ 7,06	600	1000	31,0
8.— 9. „	22,17	0	15,30	+ 6,87	650	1150	31,2
9.—10. „	22,17	0	15,80	+ 6,37	650	1300	31,5
10.—11. „	22,17	0	15,86	+ 6,31	600	1100	31,5
11.—12. „	22,17	0	16,29	+ 5,88	650	1200	31,8
Mittel pro Tag	22,17	0	15,30	+ 6,87	650	1100	31,4

Hammel II.

Tabelle VIII.

1913	N-Einnahme g	Natriumacetatzulage g	N-Ausgabe im Harn g	Differenz g	Harnmenge ccm	Wasser aufgenommen ccm	Leb.-Gew. kg
6.— 7. VII.	22,17	0	12,85	9,32	1600	2100	—
7.— 8. „	22,17	0	13,71	8,46	950	1800	28,0
8.— 9. „	22,17	0	14,06	8,11	950	1700	28,1
9.—10. „	22,17	0	14,25	7,92	1200	1800	28,4
10.—11. „	22,17	0	13,74	8,43	1100	1600	28,3
Mittel pro Tag	22,17	0	13,72	8,45	1150	1800	28,2

Ein Vergleich des Stickstoffumsatzes (Harn-N-Zahlen) der Perioden untereinander zeigt, daß von Stickstoffverlusten infolge der Salzfütterung gar keine Rede sein kann. Den Weiskeschen Befund kann ich also nicht bestätigen. Es ist hierzu aber wohl zu bemerken, daß mein Versuch in einigen Punkten von dem Weiskes etwas abweicht. Einmal war der Versuchshammel von W. (41,5 kg) schwerer als meine Tiere, die nur 31 und 28 kg wogen, so daß meine Hammel auf das Kilogramm Lebendgewicht berechnet mehr Nährstoffe erhielten. Ferner habe ich etwas geringere Mengen Natriumacetat gegeben. Weiske hat 136 g des wasserhaltigen Salzes mittels Schlundsonde, ich nur als größte Gabe 100 g pro Tag im Futter gegeben, das mit dem Salz vermischt von den Hammeln anstandslos gefressen wurde. Die Gabe von 100 g habe ich nicht mehr gesteigert, da die Tiere, wie aus den Tabellen ersichtlich, starke Diurese hatten und außerdem im Verhältnis zu den Hunden so schon wesentlich größere Natriumacetatgaben pro Kilogramm Lebendgewicht bekamen. Den Hunden habe ich im Mittel 1,2 g, den Hammeln dagegen 2,6 g Natriumacetat, also über das Doppelte pro Kilogramm Lebendgewicht gegeben. Die von mir verabreichten Salzmengen dürften also wohl genügen, um eine Wirkung auf den Stickstoffumsatz, soweit eine solche überhaupt bei den Pflanzenfressern in Betracht kommt, hervorzurufen.

Tabelle IX.

Stickstoff im Harn.			
8. V.	16,59 g		
9. „	16,80 g		
10. „	16,05 g	16,54 g (8.–13. V.)	
11. „	16,24 g		
12. „	17,07 g		
13. „	16,52 g		
14. V.	17,08 g		
15. „	15,48 g	16,69 g (14.–16. V.)	
16. „	17,51 g		17,03 g (14.–17. V.)
17. V.	18,04 g		
18. „	17,33 g		
19. „	16,03 g		
20. „	16,84 g	16,50 g (18.–23. V.)	
21. „	16,09 g		
22. „	15,69 g		
23. „	17,01 g		

Was nun den Weiskeschen Versuch betrifft (vgl. Tab. IX), so hat er nur an 3 Tagen einem Hammel das Salz gegeben, und zwar 136 g mittels Schlundsonde. In diesen 3 Tagen hat er außer einer sehr niedrigen Zahl (15,48) [die in der Vor- und Nachperiode gefundene niedrigste Zahl ist 15,69, die nächstfolgenden niedrigsten sind 16,03 und 16,05] nur eine Zahl gefunden, die außer der ersten in der Nachperiode (18,04) größer als alle anderen ist (17,51). Außerdem fand er am 1. Tage der Salzgabe 17,08 g im Harn, eine Zahl, die sich beinahe genau in der Vorperiode (17,07) vorfindet. Diskutiert man also die einzelnen Werte, so dürfte man sich wohl schwerlich zu dem von Weiske gezogenen Schluß bekennen, daß die Stickstoffausscheidung im Harn deutlich gesteigert ist. Nun hat Weiske nicht das Mittel aus den 3 Natriumacetattagen (16,69) mit den Mittelzahlen der Vor- und Nachperiode in Vergleich gestellt, sondern noch den 1. Tag der Nachperiode, an dem die höchste Zahl gefunden wurde (18,04), zur Salzperiode hinzugerechnet, weil er diesen Tag noch als vom Salz beeinflußt ansah. Dadurch ist natürlich die Mittelzahl für die 2. Periode erhöht. Abgesehen davon, daß das Mittel aus den 4 Tagen in Vergleich mit den Mittelzahlen aus den beiden 6 tägigen Perioden nur einen Stickstoffverlust im Harn von rund $^1/_2$ g ergeben würde, muß bei Gegenüberstellung so kurzer Perioden bei Wiederkäuern mit Schwankungen gerechnet werden. Da das Mittel aus den 3 Natriumacetattagen nur unwesentlich gegen die Mittelzahlen der 1. und 2. Periode erhöht ist, so läßt sich ein Stickstoffverlust nur berechnen, wenn man den 1. oder den 1. und 2. Tag der Nachperiode als noch zur Salzperiode gehörig hinzurechnet. Daraus geht hervor, daß sich für das Natriumacetat in diesem Versuche nur eine den Stickstoffbestand des Körpers etwas ungünstig beeinflussende Nachwirkung feststellen ließe, ein Schluß, der aber bei den Schwankungen, welche die Harn-N-Zahlen bei Wiederkäuern zeigen, und in Anbetracht der Kürze der Perioden nur mit Einschränkung gezogen werden kann. Mir will trotz der Schwankungen der täglichen Harn-N-Zahlen beim Wiederkäuer ein Vergleich der einzelnen Tageswerte untereinander, wie ich es getan habe, besser geeignet erscheinen, um auf die Wirkung des Salzes zu schließen.

Bei meinem ersten Versuche sind von den im Futter ge-

gebenen 22,17 g N im Harn im Mittel der einzelnen Perioden wieder ausgeschieden vom:

	Hammel I	Hammel II
In der 1. (Grundfutter-)Periode	15,69 g N = 70,8 %	14,36 g N = 64,8 %
In der 2. (Natriumacetat-)Periode	15,32 g N = 69,1 %	13,48 g N = 60,8 %
Differenz . . .	**+ 0,37 g N = 1,7 %**	**+ 0,88 g N = 4,0 %**
In der 3. (Grundfutter-)Periode	15,30 g N = 69,0 %	13,72 g N = 61,9 %
Diff. geg. Periode 2	**+ 0,02 g N = 0,1 %**	**— 0,24 g N = 1,1 %**

Bei beiden Tieren hat also das Salz eine geringe, aber doch deutlich erkennbare (namentlich bei Hammel II) Ersparnis von Futterstickstoff bewirkt.

Da nun bei Wiederkäuern mit einer Nachwirkung sicher gerechnet werden muß, ist es im allgemeinen nicht angängig, die Perioden unmittelbar aneinander anzuschließen. Wenn ich bei meinen Versuchen dennoch keine Zwischenperiode eingeschaltet habe, so geschah es, weil das leicht lösliche essigsaure Natron schnell resorbiert wird und zur Wirkung kommt. Aus den Harnmengen in den Tabellen ist z. B. auch ersichtlich, daß die durch das Salz bewirkte Diurese sofort am ersten Tag der Natriumacetatperiode einsetzt. Da nun die N-Zahlen für Harn doch noch von der vorhergehenden Periode beeinflußt sein können (nach meinen Tabellen scheint am 1. Tage der Perioden eine Nachwirkung vorhanden zu sein), werde ich die Zahlen so umrechnen, daß der 1. Tag der folgenden Periode noch zur vorhergehenden gerechnet wird.

Für die tägliche mittlere Stickstoffausscheidung im Harn berechnet sich dann für:

	Hammel I	Hammel II
In der 1. (Grundfutter-)Periode	15,79 g N = 71,2 %	14,43 g N = 65,1 %
In der 2. (Natriumacetat-)Periode	14,94 g N = 67,4 %	13,18 g N = 59,5 %
Differenz . . .	**+ 0,85 g N = 3,8 %**	**+ 1,25 g N = 5,6 %**
In der 3. (Grundfutter-)Periode	15,69 g N = 70,8 %	13,94 g N = 62,9 %
Diff. geg. Periode 2	**— 0,75 g N = 3,4 %**	**— 0,76 g N = 3,4 %**

Auf diese Weise berechnen sich also bei beiden Hammeln für die Natriumacetatperiode recht beachtenswerte Stickstoffretentionen.

Für die Beurteilung der Wirkung des Salzes habe ich in erster Linie die Harn-N-Zahlen in Vergleich gestellt. Einmal lassen diese täglich ermittelten Zahlen, untereinander verglichen, wie aus den Tabellen ersichtlich, die Tendenz zum Steigen oder Sinken im allgemeinen erkennen, und dann hat sich ja auch aus meinen Versuchen am Hunde ergeben, daß das Salz auf den Kotstickstoff ohne Einfluß ist. Es ist deshalb auch beim Wiederkäuer wohl kaum mit derartigen Wirkungen zu rechnen.

Wenn, wie aus der Tabelle X ersichtlich, die vollständigen Stickstoffbilanzen ein anderes Bild ergeben, so ist das auf Schwankungen des Kotstickstoffes zurückzuführen, mit denen bei Versuchen mit Wiederkäuern immer gerechnet werden muß (s. Tabelle X).

Bei Hammel I sinkt das Plus in der Grundfutterperiode von 0,82 g N in der Natriumacetatperiode auf

Stickstoffbilanzen.

Tabelle X.

	Hammel I			Hammel II		
	1. Periode	2. Periode	3. Periode	1. Periode	2. Periode	3. Periode
	Grundfutter	Grundfutter + Natriumacet.	Grundfutter	Grundfutter	Grundfutter + Natriumacet.	Grundfutter
Einnahme im Futter . . . . . g N	22,17	22,17	22,17	22,17	22,17	22,17
Ausgabe im Harn . . . . . . g N	15,69	15,32	15,30	14,36	13,48	13,72
" " Kot . . . . g N	5,66	6,41	4,95	7,38	7,22	5,58
Zusammen . . . g N	21,35 21,35	21,73 21,73	20,25 20,25	21,74 21,74	20,70 20,70	19,30 19,30
Differenz	+ 0,82 g N	+ 0,44 g N	+ 1,92 g N	+ 0,43 g N	+ 1,47 g N	+ 2,87 g N
In Prozenten der Einnahme . . .	+ 3,7 %	+ 2,0 %	+ 8,7 %	+ 1,9 %	+ 6,6 %	+ 13,0 %

Stickstoffbilanzen. (Für Kotstickstoff ist das Mittel aus allen drei Perioden eingesetzt.)

Tabelle XI.

	Hammel I						Hammel II					
	1. Periode		2. Periode		3. Periode		1. Periode		2. Periode		3. Periode	
	Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter	
Einnahme im Futter . . . . . g N	22,17		22,17		22,17		22,17		22,17		22,17	
Ausgabe im Harn . . . . . . g N		15,69		15,32		15,30		14,36		13,48		13,72
„ „ Kot . . . . . . g N		5,67		5,67		5,67		6,73		6,73		6,73
Zusammen . . . g N	21,36	21,36	20,99	20,99	20,97	20,97	21,09	21,09	20,21	20,21	20,45	20,45
Differenz	+ 0,81 g N		+ 1,18 g N		+ 1,20 g N		+ 1,08 g N		+ 1,96 g N		+ 1,72 g N	
In Prozenten der Einnahme . . .	3,7 %		5,3 %		5,4 %		4,9 %		8,8 %		7,8 %	

Stickstoffbilanzen. (Für Harn-N die Zahlen auf S. 194, für Kot-N die Mittelzahlen eingesetzt.)

Tabelle XII.

	Hammel I						Hammel II					
	1. Periode		2. Periode		3. Periode		1. Periode		2. Periode		3. Periode	
	Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter	
Einnahme im Futter . . . . . g N	22,17		22,17		22,17		22,17		22,17		22,17	
Ausgabe im Harn . . . . . . g N		15,79		14,94		15,69		14,43		13,18		13,94
„ „ Kot . . . . . . g N		5,67		5,67		5,67		6,73		6,73		6,73
Zusammen . . . g N	21,46	21,46	20,61	20,61	21,36	21,36	21,16	21,16	19,91	19,91	20,67	20,67
Differenz	+ 0,71 g N		+ 1,56 g N		+ 0,81 g N		+ 1,01 g N		+ 2,26 g N		+ 1,50 g N	
In Prozenten der Einnahme . . .	3,2 %		7,0 %		3,7 %		4,6 %		10,2 %		6,8 %	

0,44 herab, um in der Nachperiode auf + 1,92 anzusteigen. Wenn demnach wirklich das Salz eine geringe Mehrabgabe von Stickstoff herbeigeführt haben sollte, so ist diese durch das Plus in der letzten Periode wieder vollständig ausgeglichen. Abgesehen davon, daß diese Schwankungen auf den Kotstickstoff zurückzuführen sind (die Zahlen der Nachperioden sind das Mittel aus 6 Tagen bei Hammel I und 5 Tagen bei Hammel II, also aus recht kurzen Perioden, die in Vergleich mit den längeren beiden vorhergehenden Perioden zu stellen, nicht ganz einwandfrei ist), läßt sich aus der ganzen Bilanz eine Schädigung des Stickstoffbestandes für das Tier in diesem Versuche nicht feststellen. Bei Hammel II ist die Bilanz von 0,43 g N auf 1,47 angestiegen. Das Salz würde also hier eine Ersparung von 1,03 g N bewirkt haben. Da in der Nachperiode die Bilanz weiter ansteigt bis auf 2,87 (durch Kotstickstoff verursacht), also ein weiteres Plus von 1,84 g N zu verzeichnen ist, so hat in diesem Falle das Salz eine sicher festzustellende beträchtliche Ersparung von Stickstoff bewirkt. Wenn ich nun annehmen will, daß die Schwankungen der einzelnen Kotstickstoffzahlen die Bilanz beeinträchtigen, und deshalb das Mittel aus den Zahlen für Kotstickstoff der drei Perioden zur Berechnung einsetze, dann ergeben sich die folgenden Bilanzen, die auch nur auf eine stickstoffsparende Wirkung des Salzes hindeuten (s. Tabelle XI).

Und wenn ich schließlich noch die Stickstoffbilanz mit den schon besprochenen korrigierten Harn-N-Zahlen (ein Tag als Nachwirkung ist der vorhergehenden Periode zugerechnet) und den Mittelzahlen für Kotstickstoff berechne, so ergeben sich folgende Werte, die eine gleiche Wirkung des Salzes zum Ausdruck bringen (s. Tabelle XII).

Da O. Kellner[1]) bei einem Versuche mit Ammonacetat gefunden hatte, daß dieses Salz die Verdaulichkeit der stickstofffreien Stoffe und der Rohfaser erhöht hatte, habe ich im Kot die sogenannten Verdauungskoeffizienten bestimmt, um auch das Natriumacetat in dieser Richtung zu prüfen.

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 39, 313, 1900.

Verdauungskoeffizienten.

Hammel I.

Tabelle XIII.

1. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	664,9	22,2	138,5	31,6	49,2	123,8	321,7
Ausgabe im Kot . . .	200,5	7,4	46,1	7,8	33,5	45,3	47,8
Verdaut	464,4	14,8	92,4	23,8	15,7	78,5	273,9
" in °/₀ d. Einzelbestandteile .	69,8	66,7	66,7	75,3	31,9	63,4	85,1

2. Periode. Grundfutter + Natriumacetat.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	664,9	22,2	138,5	31,6	49,2	123,8	321,7
Ausgabe im Kot . . .	216,4	7,2	45,0	8,9	37,0	50,8	51,9
Verdaut	448,5	15,0	93,5	22,7	12,2	73,0	269,8
" in °/₀ d. Einzelbestandteile .	67,5	67,6	67,5	71,8	24,8	59,0	83,9

3. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	664,9	22,2	138,5	31,6	49,2	123,8	321,7
Ausgabe im Kot . . .	180,8	5,6	35,0	6,7	32,7	42,2	46,4
Verdaut	484,1	16,6	103,5	24,9	16,5	81,6	275,3
" in °/₀ d. Einzelbestandteile .	72,8	74,8	74,7	78,8	33,5	65,9	85,6

Bei beiden Hammeln sind in der Natriumacetatperiode mit Ausnahme des Stickstoffs und des daraus berechneten Rohproteins die sog. Verdauungskoeffizienten im Vergleich mit der 1. und 3. Periode etwas erniedrigt. Es läßt sich also betreffs der Verdaulichkeit der Nährstoffe ein günstiger Einfluß des Salzes nicht feststellen. Andererseits sind die Differenzen nicht groß genug, um ihnen eine praktische Bedeutung zuzulegen.

Hammel II.

Tabelle XIV.

1. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	664,9	22,2	138,5	31,6	49,2	123,8	321,7
Ausgabe im Kot . . .	203,3	7,4	46,3	7,4	32,9	47,8	48,7
Verdaut	461,6	14,8	92,2	24,2	16,3	75,0	273,0
" in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	69,4	66,7	66,6	76,6	33,1	62,0	84,9

2. Periode. Grundfutter + Natriumacetat.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	664,9	22,2	138,5	31,6	49,2	123,8	321,7
Ausgabe im Kot . . .	220,9	7,2	45,0	8,0	34,3	54,3	59,3
Verdaut	444,0	15,0	93,5	23,6	14,9	69,5	262,4
" in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	66,8	67,6	67,5	74,7	30,3	57,5	81,6

3. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	664,9	22,2	138,5	31,6	49,2	123,8	321,7
Ausgabe im Kot . . .	203,0	5,6	35,0	6,9	33,2	51,0	47,1
Verdaut	461,9	16,6	103,5	24,7	16,0	72,8	274,6
" in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	69,5	74,8	74,7	78,2	32,5	60,2	85,4

Was schließlich noch das Lebendgewicht der Tiere betrifft, so läßt sich bei Hammel I wohl eine geringe Zunahme von 31,2 auf 31,4 kg, bei Hammel II eine solche von 27,6 auf 28,2 kg feststellen. Also auch insofern läßt sich ein ungünstiger Schluß nicht ziehen.

Dieser erste Versuch hat also ergeben, daß Natriumacetat einem Grundfutter von engem Nährstoffverhältnis (etwa 1:3) und pro Kilogramm Lebendgewicht

reichlichen Eiweißgaben zugelegt, eine kräftige Diurese verbunden mit einer deutlich erkennbaren Verringerung der Stickstoffausscheidung bewirkt.

Versuch 2.

Hammel III und IV.

Nährstoffverhältnis etwa 1 : 9. Pro Kilogramm Lebendgewicht 0,3 g N.

Da im vorhergehenden Versuche 2 Hammel bei engem Nährstoffverhältnis (etwa 1 : 3) keine Stickstoffverluste, sondern sogar Stickstoffsparungen erkennen ließen, prüfte ich bei zwei anderen Hammeln, ob deutlichere Ausschläge zu erzielen sind, wenn ihnen ein weiteres Nährstoffverhältnis (etwa 1 : 9) gegeben und auch die Eiweißgaben pro Kilogramm Lebendgewicht verringert wurden. Obwohl ich im ersten Versuch pro Kilogramm Tier noch mehr Eiweiß gegeben hatte als Weiske, und daher die vorher von mir ausgesprochene Vermutung, daß die zu reichlichen Eiweißgaben im Weiskeschen Versuche die stickstoffsparende Wirkung des Natriumacetats hintangehalten haben könnten, nicht zutreffend ist, habe ich trotzdem, gestützt auf meine Erfahrungen bei Hunden, auch diesmal die Eiweißmengen pro Kilogramm Lebendgewicht verringert.

Analyse der Futtermittel.

Rohnährstoffe.

Tabelle XV.

	Tr.-Subst. %	Wasser %	N %	Protein %	Fett %	Asche %	Rohfaser %	N-fr. Stoffe %
Roggenstrohhäcksel	91,87	8,13	0,51	3,19	1,06	3,84	44,21	39,57
Weizenkleie . . .	91,12	8,88	2,52	15,75	4,01	5,90	10,69	54,77
Wiesenheu	92,87	7,13	1,75	10,94	2,38	8,91	28,02	42,62
Erdnußkuchen . .	90,46	9,54	7,18	44,88	9,08	4,32	4,27	27,91
Kartoffelstärke . .	81,76	18,24	0,01	0,06	—	0,28	—	81,42

Die Hammel III und IV (Merinokreuzung), die ich auf dem hiesigen Viehhof kaufte, waren ähnlich den vorhergehenden nur sehr wenig angemästet. Sie wogen bei Beginn des Versuches: Hammel III 37,6 kg, Hammel IV 36,3 kg; sie waren also etwas schwerer als die ersten. Vom

29. Oktober ab bekamen sie das unten angegebene Grundfutter. Am 13. November begann der Versuch mit Hammel III, am 10. November mit Hammel IV, also nach 15 und 13tägiger Vorfütterung. Die Tiere hatten sich gleichfalls an die Stände und das Geschirr gewöhnt und fraßen das Futter quantitativ.

Wie im vorhergehenden Versuch bekamen die Tiere zunächst ein Grundfutter, darauf die Zulagen von Natriumacetat und wieder nur das Grundfutter, dem ich in einer 4. Periode abermals noch Natriumacetat zulegte. Da es sich nicht mehr um eine Nachprüfung eines früheren Versuches handelte, habe ich den Zucker fortgelassen, um so mehr als es jetzt genügend bekannt ist, daß Zucker beim Wiederkäuer durch Pansengärung zum erheblichen Teile zerstört wird.

1. Periode.

Grundfutter.

Tabelle XVI.

	Tr.-Subst. g	Wasser g	N g	Protein g	Fett g	Asche g	Rohfaser g	N-fr. Stoffe g
400 g Roggenstrohhäcksel	367,48	32,52	2,04	12,76	4,24	15,36	176,84	158,28
100 g Weizenkleie . . .	91,12	8,88	2,52	15,75	4,01	5,90	10,69	54,77
200 g Wiesenheu	185,74	14,26	3,50	21,88	4,76	17,82	56,04	85,24
40 g Erdnußkuchen . .	36,18	3,82	2,87	17,95	3,63	1,73	1,71	11,16
150 g Kartoffelstärke . .	122,64	27,36	0,02	0,09	—	0,42	—	122,13
Nährstoffe g pro Tag . .	803,16	86,84	10,95	68,43	16,64	41,23	345,28	431,58

Außerdem bekamen die Tiere noch täglich wieder 8 g Kochsalz und wie im vorhergehenden Versuch gleichfalls Wasser ad libitum.

Hammel III.

Tabelle XVII.

1913	Einnahme N g	Ausgabe im Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm
13./14. XI.	10,95	5,90	+ 5,05	800	1550
14./15. „	10,95	6,82	+ 4,13	1300	1900
15./16. „	10,95	6,22	+ 4,73	950	1800
16./17. „	10,95	6,30	+ 4,65	800	1700
17./18. „	10,95	6,18	+ 4,77	1000	1900
18./19. „	10,95	6,45	+ 4,50	1000	1800
19./20. „	10,95	6,52	+ 4,43	800	1500
Mittel pro Tag	10,95	6,34	+ 4,61	950	1700

Hammel IV.

Tabelle XVIII.

1913	Einnahme N g	Ausgabe im Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm
10./11. XI.	10,95	6,23	+ 4,72	780	2000
11./12. „	10,95	6,20	+ 4,75	600	1780
12./13. „	10,95	5,35	+ 5,60	500	1600
13./14. „	10,95	7,36	+ 3,59	550	1500
14./15. „	10,95	(Harnverluste)		580	1600
15./16. „	10,95	6,06	+ 4,89	550	1600
16./17. „	10,95	5,94	+ 5,01	550	1900
Mittel pro Tag	10,95	6,19	+ 4,76	600	1700

2. Periode.

Grundfutter + Zulagen von Natriumacetat.

(Täglich 100 g Natriumacetat gegeben.)

Hammel III.

Tabelle XIX.

1913	Einnahme N g	Ausgabe im Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm
20./21. XI.	10,95	6,17	+ 4,78	2100	3700
21./22. „	10,95	5,28	+ 5,67	2400	3300
22./23. „	10,95	4,62	+ 6,33	2400	3600
23./24. „	10,95	4,87	+ 6,08	1750	3600
24./25. „	10,95	5,29	+ 5,66	1950	2900
25./26. „	10,95	5,13	+ 5,82	2400	3200
26./27. „	10,95	5,01	+ 5,94	2600	2900
Mittel pro Tag	10,95	5,20	+ 5,75	2200	3300

(Am 1. Tage 50 g, 2. Tage 60 g, 3. Tage 80 g, den übrigen Tagen 100 g Natriumacetat gegeben.)

Hammel IV.

Tabelle XX.

1913	Einnahme N g	Ausgabe im Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm
17./18. XI.	10,95	5,58	+ 5,37	700	2600
18./19. „	10,95	5,03	+ 5,92	1000	2650
19./20. „	10,95	5,40	+ 5,55	1300	3400
20./21. „	10,95	5,83	+ 5,12	1850	3600
21./22. „	10,95	5,58	+ 5,37	1900	3100
22./23. „	10,95	5,46	+ 5,49	2200	2700
23./24. „	10,95	5,79	+ 5,16	2200	2300
Mittel pro Tag	10,95	5,52	+ 5,43	1600	2900

3. Periode.

Grundfutter.

Hammel III.

Tabelle XXI.

1913	E. N g	A. Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm
27./28. XI.	10,95	5,06	+ 5,89	1700	2000
28./29. "	10,95	5,67	+ 5,28	1450	2200
29./30. "	10,95	6,30	+ 4,65	1550	2300
30. XI./1. XII.	10,95	6,09	+ 4,86	1000	1900
1./2. XII.	10,95	6,45	+ 4,50	1200	2000
2./3. "	10,95	5,96	+ 4,99	900	2000
3./4. "	10,95	6,21	+ 4,74	1400	2200
Mittel pro Tag	10,95	5,96	+ 4,99	1300	2000

Hammel IV.

Tabelle XXII.

1913	E. N g	A. Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm
24./25. XI.	10,95	5,34	+ 5,61	1000	1600
25./26. "	10,95	5,65	+ 5,30	1000	1800
26./27. "	10,95	5,33	+ 5,62	800	2000
27./28. "	10,95	5,53	+ 5,42	900	1600
28./29. "	10,95	5,27	+ 5,68	850	1800
29./30. "	10,95	5,45	+ 5,50	950	2100
30. XI./1. XII.	10,95	5,39	+ 5,56	1000	2000
Mittel pro Tag	10,05	5,42	+ 5,53	950	1800

4. Periode.

Erst Zulage von Natriumacetat, dann Grundfutter.

Hammel III.

Tabelle XXIII.

1913	E. N g	A. Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm	Bemerkungen
4./5. XII.	10,95	6,10	+ 4,85	2400	3400	100 g Natriumacetat gegeben.
5./6. "	10,95	5,33	+ 5,62	2800	3000	do.
6./7. "	10,95	5,28	+ 5,67	2300	2800	do.
7./8. "	10,95	5,30	+ 5,65	1350	1150	Nur Grundfutter.
Mittel pro Tag	10,95	5,50	+ 5,45	2200	2600	

Hammel IV.

Tabelle XXIV.

1913	E. N g	A. Harn N g	Differenz N g	Harn ccm	Wasser ccm	Bemerkungen
1./2. XII.	10,95	5,82	+ 5,13	1400	3350	100 g Natriumacetat gegeben.
2./3. „	10,95	5,03	+ 5,92	1900	3150	do.
3./4. „	10,95	5,50	+ 5,45	1950	2900	do.
4./5. „	10,95	5,05	+ 5,90	900	1500	Nur Grundfutter.
5./6. „	10,95	5,42	+ 5,53	1400	2100	do.
6./7. „	10,95	5,26	+ 5,69	900	1900	do.
7./8. „	10,95	5,17	+ 5,78	900	1700	do.
Mittel pro Tag	10,95	5,32	+ 5,63	1300	2400	

Wie im Versuch 1, so werde ich auch hier in erster Linie die Harn-N-Zahlen in Vergleich stellen.

Von den im Futter gegebenen 10,95 g N sind im Harn im Mittel pro Tag wieder ausgeschieden worden:

	Hammel III		Hammel IV	
In der 1. (Grundfutter)periode .	6,34 g N =	58,0 %	6,19 g N =	56,6 %
In der 2. Natriumacetatperiode .	5,20 g N =	47,6 %	5,52 g N =	50,5 %
Differenz . .	**+ 1,14 g N =**	**10,4 %**	**+ 0,67 g N =**	**6,1 %**
In der 3. (Grundfutter)periode .	5,96 g N =	54,5 %	5,42 g N =	49,6 %
Diff. geg. Period. 2	**— 0,76 g N =**	**— 6,9 %**	**+ 0,10 g N =**	**+ 0,9 %**
In der 4. (Grundfutter- u. Natriumacetat)periode .	5,50 g N =	50,3 %	5,32 g N =	48,7 %
Diff. geg. Period. 3	**+ 0,46 g N =**	**+ 4,2 %**	**+ 0,10 g N =**	**+ 0,9 %**

Das Salz hat also eine kräftigere Wirkung geäußert als im ersten Versuch, wo bei Hammel I nur eine Ersparnis von 0,37 g = 1,7 %, bei Hammel II 0,88 g N = 4,0 % festgestellt werden konnte. Wie beim Hunde, so wirkt also auch das Natriumacetat beim Wiederkäuer dann deutlich stickstoffsparend, wenn ein nicht zu eiweißreiches Futter gegeben wird. Nach diesen Befunden und besonders in Anlehnung an frühere Versuche am Hunde ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, daß bei noch geringeren Eiweißgaben die stickstoffsparende Wirkung des Salzes noch stärker hervortreten würde.

Nehme ich auch hier wieder an, daß das Salz am ersten Tage der 2. Periode noch nicht voll zur Wirkung gekommen ist und noch in der folgenden Grundfutterperiode eine Nachwirkung geäußert hat, und rechne deshalb den ersten Tag der Natriumacetatperiode noch zur 1. Grundfutterperiode und den ersten Tag der 3. Grundfutterperiode noch zur Natriumacetatperiode, so ergeben sich folgende Zahlen.

Ausgeschieden Stickstoff im Harn in Gramm.:

	Hammel III	Hammel IV
In der 1. (Grundfutter-) periode	6,32 g N = 5,8 %	6,10 g N = 5,6 %
In der 2. (Natriumacetat)periode . . .	5,04 g N = 4,6 %	5,49 g N = 5,0 %
Differenz	**+ 1,28 g N = 1,2 %**	**+ 0,61 g N = 0,6 %**
In der 3. (Grundfutter-) periode	6,11 g N = 5,6 %	5,49 g N = 5,0 %
Diff. gegen Periode 2	**— 1,07 g N = 1,0 %**	**± 0 g N = 0 %**
In der 4. (Grundfutter- und Natriumacetat-) periode	5,30 g N = 4,8 %	5,24 g N = 4,8 %
Diff. gegen Periode 3	**+ 0,81 g N = 0,7 %**	**+ 0,25 g N = 0,2 %**

Im wesentlichen werden so die Zahlen in beiden Fällen nur wenig geändert. Auch nach dieser Umrechnung kann man nur eine stickstoffsparende Wirkung des Salzes mit Sicherheit feststellen.

Die vollständigen Stickstoffbilanzen ergeben beim Hammel III unter der Einwirkung des Natriumacetats eine Verringerung der Bilanz von — 1,17 auf — 0,11 g N. Das Tier ist also ungefähr ins Stickstoffgleichgewicht gekommen. In der darauffolgenden Grundfutterperiode steigt die Bilanz, da der Kotstickstoff verringert ist, sogar auf + 0,62 an, wird also positiv um in der 4tägigen 4. Periode, in der ich an den ersten 3 Tagen noch Natriumacetat am 4. Tage des Grundfutters allein gab, auf + 0,15 g N zurückzugehen. Bei Hammel III hat also das Salz in der Natriumacetatperiode eine Ersparnis von 9,7 % des Futterstickstoffs im Vergleich mit der Grundfutterperiode bewirkt. Wenn man die weitere Ersparnis von 6,7 % in der 3. Periode im Vergleich mit der zweiten einer Nachwirkung des Salzes zu-

schreiben darf, dann hätte also das Salz in diesem Falle eine sehr beachtenswerte Wirkung geäußert. In der letzten Periode, die unter der Einwirkung des Natriumacetats stand, zeigt sich wieder eine Vermehrung der Stickstoffausscheidung. Die Bilanz bleibt aber positiv. Diese letzte Periode ist aber wegen ihrer Kürze überhaupt schwer in Vergleich mit den vorhergehenden zu stellen. Aus den Harn-N-Zahlen ist eine weitere Verringerung der Stickstoffausscheidung zu erkennen, die aber durch den erhöhten Kotstickstoff vollständig verdeckt wird. Ganz anders bei Hammel IV. Die Bilanz von — 0,81 bleibt nach den Natriumacetatgaben, da der Kotstickstoff ansteigt, unverändert (— 0,80). Erst in der 3. Grundfutterperiode scheint sich eine Nachwirkung des Salzes bemerkbar zu machen, denn die Bilanz schnellt plötzlich in die Höhe bis auf + 0,26 g und steigt in der letzten 4. Periode, in der das Tier an den ersten 3 Tagen noch Natriumacetat, den folgenden 4 Tagen nur das Grundfutter erhielt, auf 0,49 g weiter an. Wie aus Tabelle XXV ersichtlich, ist diese günstige Gestaltung der Bilanz auf den Kotstickstoff zurückzuführen. Wenn demnach auch bei Hammel IV zunächst keine Wirkung des Salzes, nach der vollständigen Stickstoffbilanz betrachtet, zu ersehen ist, so deutet doch die günstige Gestaltung des Stickstoffwechsels in den folgenden beiden Perioden auf die Wirkung des Natriumacetats hin.

Wenn ich im ersten Versuche die Bilanzen auch in der Weise berechnet habe, daß ich das Mittel der Kotzahlen der Perioden beider Hammel in Rechnung gestellt habe, so ist hier bei diesem Versuche diese Art der Berechnung ganz besonders angebracht. Es zeigten sich nämlich während dieses Versuchs bei den Tieren Verdauungsstörungen. Schon am 4. November, also vor Beginn des Versuchs, bekam Hammel III Diarrhöe, die aber nach wenigen Tagen überstanden war. Dasselbe zeigte sich während des Versuchs. Am 23. November war der Kot dieses Tieres wieder sehr dünn, und am folgenden Tage war eine ausgesprochene Diarrhöe zu konstatieren, die aber am 24. November ohne Hilfsmittel überwunden war. Ähnlich hatte auch Hammel IV vom 19. bis 23. November zum Teil weicheren Kot, zum Teil Diarrhöe, die aber auch bald wieder verschwand. Obwohl nun diese Erscheinungen bei beiden Tieren während der Natriumacetatperioden beobachtet wurden, wäre es doch

Stickstoffbilanzen.

Tabelle XXV.

	Hammel III								Hammel IV							
	1. Periode		2. Periode		3. Periode		4. Periode		1. Periode		2. Periode		3. Periode		4. Periode	
	Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter u. Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter u. Natriumacet.	
Einnahme im Futter . g N	10,95		10,95		10,95		10,95		10,95		10,95		10,95		10,95	
Ausgabe im Harn . . g N		6,34		5,20		5,96		5,50		6,19		5,52		5,42		5,32
„ „ Kot . . g N		5,78		5,86		4,37		5,30		5,67		6,23		5,27		5,14
Zusammen . . . g N	12,12	12,12	11,06	11,06	10,33	10,33	10,80	10,80	11,76	11,76	11,75	11,75	10,69	10,69	10,46	10,46
Differenz	− 1,17 g N		− 0,11 g N		+ 0,62 g N		+ 0,15 g N		− 0,81 g N		− 0,80 g N		+ 0,26 g N		+ 0,49 g N	
In Prozenten d. Einnahme	− 10,7 %		− 1,0 %		+ 5,7 %		+ 1,4 %		− 7,4 %		− 7,3 %		+ 2,4 %		+ 4,6 %	

Stickstoffbilanz. (Für Kot-N ist das Mittel aus allen vier Perioden eingesetzt.)

Tabelle XXVI.

	Hammel III								Hammel IV							
	1. Periode		2. Periode		3. Periode		4. Periode		1. Periode		2. Periode		3. Periode		4. Periode	
	Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.		Grundfutter		Grundfutter + Natriumacet.	
Einnahme im Futter . g N	10,95		10,95		10,95		10,95		10,95		10,95		10,95		10,95	
Ausgabe im Harn . . g N		6,34		5,20		5,96		5,50		6,19		5,52		5,42		5,32
„ „ Kot . . g N		5,33		5,33		5,33		5,33		5,58		5,58		5,58		5,58
Zusammen . . . g N	11,67	11,67	10,53	10,53	11,29	11,29	10,83	10,83	11,77	11,77	11,10	11,10	11,00	11,00	10,90	10,90
Differenz	− 0,72 g N		+ 0,42 g N		− 0,34 g N		+ 0,12 g N		− 0,82 g N		− 0,15 g N		− 0,05 g N		+ 0,05 g N	
In Prozenten d. Einnahme	− 6,6 %		+ 3,7 %		− 3,1 %		+ 1,1 %		− 7,5 %		− 1,4 %		− 0,5 %		+ 0,5 %	

nicht berechtigt, die Diarrhöe dem Salze zuzuschreiben, denn einmal bekam schon der Hammel III während der Vorfütterung, wo er also noch gar kein Natriumacetat bekommen hatte, Diarrhöe, und dann wurde der Kot beider Tiere noch während der Natriumacetatperiode wieder vollständig normal geformt. Außerdem habe ich bei meinen vielen Versuchen am Hunde nie eine Wirkung auf die Konsistenz des Kotes wahrnehmen können.

Wenn ich nun in der vorstehenden Tabelle XXVI zur Berechnung der Stickstoffbilanzen die Mittelzahlen für Kotstickstoff aus allen vier Perioden eingesetzt habe, so dürfte diese Maßnahme unter den angegebenen Umständen vielleicht ein richtigeres Bild des Stickstoffwechsels dieser beiden Tiere geben, da anzunehmen ist, daß die Diarrhöe vielleicht doch eine Mehrabgabe von Stickstoff zur Folge gehabt hat, wodurch natürlich die Zahlen der Natriumacetatperiode ungünstig beeinflußt wären.

Das Bild ist so natürlich ein wesentlich anderes, namentlich beim Hammel IV, bei dem jetzt auf die Salzgabe eine direkte Wirkung festgestellt werden kann. Auf jeden Fall läßt sich aus beiden Bilanzaufstellungen nur eine deutliche stickstoffsparende Wirkung des essigsauren Natrons feststellen. Die Bilanz auch mit den Harnzahlen auf S. 205 aufzustellen, habe ich diesmal unterlassen. Aus den Zahlen ist ja ohnehin deutlich zu ersehen, daß sich die Bilanz dann noch günstiger für das Natriumacetat gestalten würde.

Verdauungskoeffizienten.

Hammel III.

Tabelle XXVII.

1. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	803,2	11,0	68,4	16,6	41,2	345,3	431,6
Ausgabe im Kot . . .	370,6	5,8	36,3	0,7	33,7	138,2	124,5
Verdaut	432,6	5,2	32,1	15,9	7,5	207,1	307,1
„ in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	53,9	47,3	46,9	95,8	18,2	60,0	71,2

2. Periode. Grundfutter + Natriumacetat.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	803,2	11,0	68,4	16,6	41,2	345,3	431,6
Ausgabe im Kot . . .	359,9	5,9	36,9	0,7	34,6	137,7	112,9
Verdaut	443,3	5,1	31,5	15,9	6,6	207,6	318,7
„ in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	55,2	46,4	46,1	95,8	16,0	60,1	73,8

3. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	803,2	11,0	68,4	16,6	41,2	345,3	431,6
Ausgabe im Kot . . .	356,3	5,3	33,1	0,7	32,4	133,2	120,1
Verdaut	446,9	5,7	35,3	15,9	8,8	212,1	311,5
„ in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	55,6	51,8	51,6	95,8	21,4	61,4	72,2

Hammel IV.

Tabelle XXVIII.

1. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	803,2	11,0	68,4	16,6	41,2	345,3	431,6
Ausgabe im Kot . . .	371,7	5,7	35,6	0,7	35,0	130,5	132,1
Verdaut	431,5	5,3	32,8	15,9	6,2	214,8	299,5
„ in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	53,7	48,2	48,0	95,8	15,1	62,2	69,4

2. Periode. Grundfutter + Natriumacetat.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	803,2	11,0	68,4	16,6	41,2	345,3	431,6
Ausgabe im Kot . . .	381,9	6,2	38,8	0,6	38,5	141,9	122,8
Verdaut	421,3	4,8	29,6	16,0	2,7	203,4	308,8
„ in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	52,5	43,6	43,3	96,4	6,6	58,9	71,6

3. Periode. Grundfutter.

	Tr.-Subst.	N	Roh-prot.	Roh-fett	Asche	Roh-faser	N-freie Stoffe
Einnahme: Nährstoffe in Gramm pro Tag	803,2	11,0	68,4	16,6	41,2	345,3	431,6
Ausgabe im Kot . . .	357,7	5,4	33,8	0,6	32,2	121,8	132,4
Verdaut	445,5	5,6	34,6	16,0	9,0	223,5	299,2
„ in $^0/_0$ d. Einzelbestandteile .	55,5	50,9	50,6	96,4	21,8	64,7	69,3

Die Tabellen XXVII und XXVIII zeigen die sog. Verdauungskoeffizienten, die ich auch diesmal wieder im Kot der drei ersten Perioden bestimmt habe. Abgesehen davon, daß die Unterschiede nur gering sind, namentlich bei Hammel III, so sind diese Zahlen mit Vorsicht zu beurteilen, da ja beide Tiere während der Natriumacetat-Periode an Diarrhöe gelitten hatten. Weitere Schlüsse lassen sich also aus diesen Zahlen, die, wie ersichtlich, im allgemeinen keine beträchtlichen Unterschiede zeigen, wohl nicht ziehen.

Das Lebendgewicht der Tiere hat sich nur unbedeutend geändert.

Hammel III wog bei Beginn des Versuchs	am	14. XI.	37,6 kg,
„ III „ am Schluß „	„	„ 8. XII.	36,2 „
			— 1,4 kg.
Hammel IV wog bei Beginn des Versuchs	am	11. XI.	36,3 kg,
„ IV „ am Schluß „	„	„ 8. XII.	36,4 „
			+ 0,1 kg.

Da die beim Hammel III gefundene Abnahme von 1,4 kg sich nur aus zwei Wägungen berechnet, das Lebendgewicht der Tiere aber natürlich Schwankungen unterworfen ist, so kann aus den Zahlen auf eine deutliche Abnahme nicht geschlossen werden.

Das Resultat dieses 2. Versuchs wäre dahin zusammenzufassen, daß essigsaures Natron, einem Grundfutter von weiterem Nährstoffverhältnis zugelegt, das auch pro Kilogramm Lebendgewicht berechnet nicht sehr große Eiweißmengen enthält, eine kräftige Di-

urese verbunden mit einer nicht unbeträchtlichen Ersparung von Futterstickstoff bewirkt.

Aus beiden Versuchen ist also zu entnehmen, daß das Natriumacetat den Stickstoffumsatz (Stickstoffabgabe im Harn) herabsetzt. Auch die vollständigen Stickstoffbilanzen lassen entweder direkt oder in der folgenden Grundfutterperiode die stickstoffsparende Wirkung des Natriumsalzes deutlich erkennen. Ähnlich wie beim Hunde, so hat also auch hier das Natriumacetat zu Stickstoffsparungen geführt. In der nachstehenden Tabelle XXIX sind die pro Kilogramm Lebendgewicht verabreichten und davon durch das Natriumacetat gesparten Stickstoffmengen zusammengestellt.

Hunde.

Tabelle XXIX.

Von	0,46 g N	pro	kg Lebendgewicht	im	Futter	wurden	0,04 g N	gespart.
„	0,44 g N	„	„	„	„	„	0,05 g N	„
„	0,21 g N	„	„	„	„	„	0,02 g N	„
„	0,52 g N	„	„	„	„	„	0,03 g N	„
„	0,38 g N	„	„	„	„	„	0,06 g N	„
„	0,39 g N	„	„	„	„	„	0,03 g N	„
„	0,27 g N	„	„	„	„	„	0,04 g N	„
„	0,28 g N	„	„	„	„	„	0,03 g N	„

Hammel.

Von	0,71 g N	pro	kg Lebendgewicht	im	Futter	wurden	„negativ“	gespart.
„	0,79 g N	„	„	„	„	„	0,04 g N	„
„	0,3 g N	„	„	„	„	„	0,03 g N	„
„	0,3 g N	„	„	„	„	„	„negativ“	„

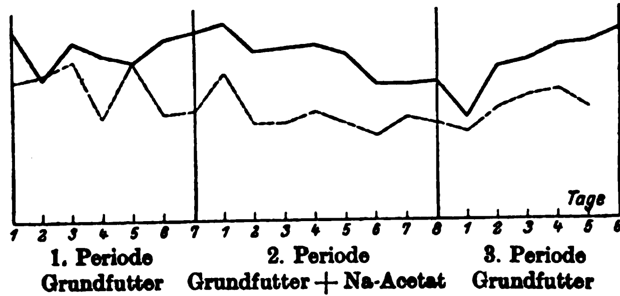
Diese Zahlen sind aus den vollständigen unkorrigierten Stickstoffbilanzen berechnet. Da gerade bei den Hammeln sich bedeutende Nachwirkungen bemerkbar machten, hier aber nur die in der Natriumacetatperiode gefundenen Verringerungen der Stickstoffausscheidungen in Rechnung gestellt sind, so fällt diese Berechnung nicht zugunsten der Hammel aus. Im allgemeinen aber kann doch gesagt werden, daß die Wirkung des Salzes bei Hunden wie bei Hammeln ungefähr gleich zu sein scheint. Wenn auch die Zahlen bei den Hammelversuchen größere Schwankungen aufweisen, so liegen sie doch, wenn man die vollständigen Versuche mit Nachperioden betrachtet, alle in einer Richtung, was auch aus den folgenden graphischen Darstellungen mit Deutlichkeit zu ersehen ist.

Versuch 1.

Stickstoffumsatz (Harn-N-Zahlen).

—— Hammel I, ------ Hammel II.

Tabelle XXX.

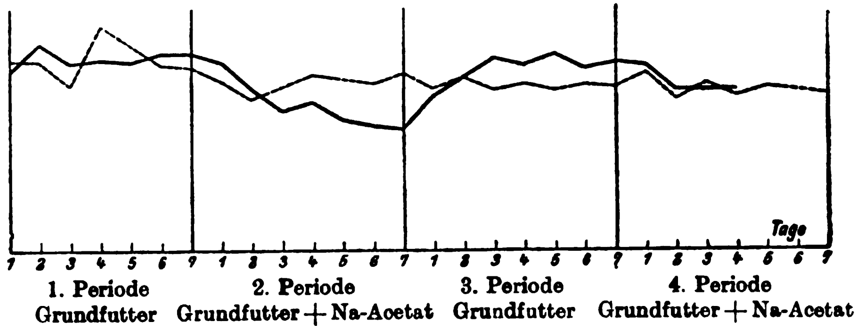


Versuch 2.

Stickstoffumsatz (Harn-N-Zahlen).

—— Hammel III, —— Hammel IV.

Tabelle XXXI.

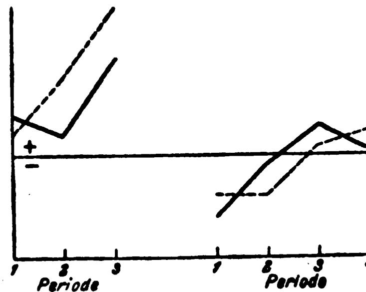


Stickstoffbilanzen.

Versuch 1.
—— Hammel I
---- Hammel II

Versuch 2.
—— Hammel III
—— Hammel IV

Tabelle XXXII.



Die Resultate meiner Versuche sind denen, die Gabriel[1]) bei Hammeln mit Kochsalz gefunden hat, ähnlich. Die Stickstoffbilanzen gestalteten sich bei Gabriel folgendermaßen:

Versuch 1.

Hammel I.

Tabelle XXXIII.

	Perioden							
	1. Grundfutter		2. Grundfutter + 30 g NaCl		3. Grundfutter		4. Grundfutter + 10 g NaCl	
Futter-N . .		13,94		13,94		13,94		13,94
Harn-N . .	6,07		6,09		5,74		5,51	
Kot-N . . .	7,67	13,74	7,48	13,57	7,82	13,56	7,38	12,89
Differenz . .		+ 0,20		+ 0,37		+ 0,38		+ 1,05
In % d. Einnahme . .		+ 1,4%		+ 2,7%		+ 2,7%		+ 7,5%

Hammel II.

Tabelle XXXIV.

	Perioden							
	1. Grundfutter		2. Grundfutter + 30 g NaCl		3. Grundfutter		4. Grundfutter + 10 g NaCl	
Futter-N . .		13,94		13,94		13,94		13,94
Harn-N . .	6,47		6,43		6,30		6,26	
Kot-N . . .	7,46	13,93	6,96	13,39	6,90	13,20	6,86	13,08
Differenz . .		+ 0,01		+ 0,55		+ 0,74		+ 0,86
In % d. Einnahme . .		+ 0,07%		+ 4,0%		+ 5,3%		+ 6,2%

Versuch 2.

Hammel II.

Tabelle XXXV.

	Perioden							
	1. Grundfutter		2. Grundfutter + 30 g NaCl		3. a) Grundfutter		3. b) Grundfutter	
Futter-N . .		22,34		22,34		22,34		22,34
Harn N . .	14,95		13,94		14,96		15,12	
Kot-N . . .	6,92	21,87	6,60	20,54	6,93	21,89	6,41	21,53
Differenz . .		+ 0,47		+ 1,80		+ 0,45		+ 0,81
In % d. Einnahme . .		+ 2,1%		+ 8,1%		+ 2,0%		+ 3,6%

[1]) Zeitschr. f. Biol. 29, 554.

Hammel III.
Tabelle XXXVI.

	Perioden							
	1. Grundfutter		2. Grundfutter + 30 g NaCl		3. a) Grundfutter		3. b) Grundfutter	
Futter-N . .		22,34		22,34		22,34		22,34
Harn-N . .	13,53		13,30		13,81		13,88	
Kot-N . . .	7,03	20,56	7,03	20,33	7,23	21,04	7,12	21,00
Differenz . .		+ 1,78		+ 2,01		+ 1,30		+ 1,34
In % d. Einnahme . .		+ 8,0%		+ 9,0%		+ 5,8%		+ 6,0%

Im ersten Versuch von Gabriel ist bei Hammel I zunächst kaum eine Wirkung zu bemerken. Aber schon in der folgenden 3. Periode sinkt die Stickstoffausscheidung im Harn (da der Kotstickstoff erhöht ist, ist die Bilanz unverändert), und bei nochmaliger Kochsalzgabe (Periode 4) ist eine deutliche N-Retention vorhanden. Bei Hammel II dagegen zeigt die Bilanz sofort eine Stickstoffretention, die sich in der folgenden Grundfutterperiode noch etwas erhöht und bei nochmaliger Kochsalzgabe wieder noch etwas ansteigt. Wie aus den Zahlen ersichtlich, sind diese Retentionen auf den Kotstickstoff zurückzuführen, denn die Harn-N-Zahlen zeigen nur geringe Abweichungen. Derselbe Hammel II zeigt im zweiten Versuche die Wirkung des Salzes sofort. Die N-Bilanz ergibt eine Retention von 1,33 g N, die in der Grundfutterperiode 3 wieder den ursprünglichen Wert erreicht. Bei nochmaliger Kochsalzgabe ist die Stickstoffausscheidung im Harn sogar etwas erhöht (0,16 g). Da aber der Kotstickstoff um 0,52 g erniedrigt ist, so ergibt die vollständige N-Bilanz auch hier noch eine Retention von 0,36 g N. Schließlich hat auch Hammel III auf das Kochsalz in der 2. Periode nur mit einer kleinen Retention von 0,23 g N reagiert, die aber durch eine Mehrausscheidung von 0,51 g N im Harn + 0,20 g N im Kot in der folgenden Grundfutterperiode übertroffen wird. Eine nochmalige Kochsalzgabe vermag die N-Bilanz nicht zu ändern. Bei diesem Tiere hat also das Kochsalz den Stickstoffwechsel etwas ungünstig beeinflußt.

Wenn ich, nachdem ich nunmehr auch 2 Versuche mit Hammeln durchgeführt habe, eine Erklärung für die stickstoff-

sparende Wirkung des Natriumacetats zu geben versuche, so kann ich natürlich auch heute über Erwägungen nicht hinausgehen. Daß es sich um Ersatz von Neutralisationsammoniak handeln kann, will mir, nachdem ich auch bei Wiederkäuern positive Zahlen gefunden habe, nicht mehr wahrscheinlich erscheinen. Bekanntlich sind Wiederkäuer gegen Säuren sehr empfindlich, weil sie eben kein schützendes Neutralisationsammoniak wie die Fleischfresser zu bilden vermögen, die auf Säureeingabe mit verstärkter Ammoniakabgabe im Harn antworten. Da nun aber der Wiederkäuer, wie Versuche von Eppinger zeigen, auch Neutralisationsammoniak zu bilden vermag, wenn man ihm Aminosäuren subcutan gibt, so muß daraus geschlossen werden, daß der Wiederkäuer nicht fähig ist, aus seinem Körpereiweiß Neutralisationsammoniak zu bilden. Also soweit Ersatz von Neutralisationsammoniak durch Natrium in Betracht kommt, könnte so wohl nur ein Teil der Stickstoffretentionen erklärt werden. Vielleicht ließe sich auch eine Erklärung für die Stickstoffsparungen finden, wenn man eine Insuffizienz des Säftestromes annimmt. Der Organismus hat natürlich das Bestreben, sich eines Fremdkörpers so schnell wie möglich zu entledigen. Er muß deshalb also zunächst die verfütterten beträchtlichen Mengen Natriumacetat wieder entfernen, wodurch die Ausscheidung stickstoffhaltiger Abbauprodukte, wenn man sich den Organismus mit der Bewältigung der lästigeren Natriumsalzmengen voll beschäftigt denkt, zurückgedrängt werden könnte. Das Zurückgehen der Stickstoffausscheidung im Harn bei Fütterung von Natriumacetat bzw. Kochsalz ließe sich vielleicht so erklären. Nun ist aber wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß der Organismus, nachdem er das Salz entfernt hat, sich auch der aufgespeicherten stickstoffhaltigen wertlosen Abbauprodukte entledigen würde. Dies ist aber nicht der Fall. Im Gegenteil zeigt sich in einigen Fällen die Stickstoffsparung überhaupt erst in der Nachperiode. Eine Erhöhung der Stickstoffausscheidung im Harn im Vergleich zur 1. Periode trat in keinem Falle ein, sondern meistens waren in der Nachperiode weitere N-Retentionen zu bemerken, und bei nochmaliger Salzgabe zeigte sich häufig abermals eine verminderte Stickstoffabgabe im Harn. Es deutet dies darauf hin, daß es sich hier wohl nicht um eine vorübergehende Auf-

speicherung wertloser Abbauprodukte des Eiweißstoffwechsels handeln dürfte, wodurch eine nutzbringende N-Retention vorgetäuscht wird. Denn abgesehen davon, daß in der Nachperiode eine Erhöhung der Stickstoffausscheidung bei meinen Versuchen im Vergleich mit der vorhergehenden Grundfutterperiode nicht zu konstatieren war, dürfte auch besonders der Umstand gegen die Annahme sprechen, daß die Stickstoffsparungen beim Hunde und auch beim Hammel in größerem Umfange eintraten, beim Hunde manchmal überhaupt erst, wenn die den Tieren im Futter gegebenen Eiweißmengen reduziert wurden. Schließlich dürfte aber auch das durchaus normale Verhalten und Wohlbefinden der Tiere während dieser Salzversuche (nur eine Hündin ist, wie ich früher mitgeteilt habe, nach einem Versuche an hämorrhagischer Nephritis schwer erkrankt; das Tier hatte außer Natriumacetat auch Magnesium und Calcium erhalten) nur darauf hindeuten, daß es sich nicht um Störungen des Stickstoffwechsels handelt. Eine Störung aber des Eiweißabbaues und Wiederaufbaues zu Organeiweiß dürfte sich doch wohl in irgendwelchen krankhaften Erscheinungen äußern.

Durch die Versuche von Abderhalden und seinen Mitarbeitern muß es als erwiesen gelten, daß der Organismus aus einzelnen stickstoffhaltigen Verbindungen und stickstofffreien Stoffen das Eiweißmolekül nicht zu bilden vermag. Man muß ihm entweder Eiweiß, das nach dem Abbau bis zu den Aminosäuren die Bausteine liefert, oder diese sämtlichen Bausteine als solche zur Verfügung stellen, damit der Organismus daraus das körpereigene Eiweiß bilden kann. Infolgedessen kann bei meinen Versuchen auch nicht an eine Verwertung ev. im Körper zurückgehaltener einfacher stickstoffhaltiger Abbauprodukte gedacht werden, es sei denn, daß alle zur Bildung des Eiweißmoleküls nötigen Bausteine vorhanden wären. Da nun der Organismus unter der Einwirkung des Salzes zweifellos weniger Stickstoff abgegeben hat, Stickstoffverluste durch Ausatmung oder eine vorläufige Aufspeicherung stickstoffhaltiger Abbauprodukte im Organismus nicht anzunehmen sind, so liegt die Annahme am nächsten, daß das Salz für den Stickstoffbestand des Körpers nicht nur einen scheinbaren, sondern tatsächlichen Vorteil gehabt hat.

Wenn nun auch durch Versuche von Knop und Embden, Fellner usw. der Nachweis erbracht ist, daß der Organismus aus einfachen Stickstoffverbindungen und stickstofffreien Stoffen Aminosäuren, die zur Bildung des Eiweißmoleküls notwendig sind, zu bilden vermag, so muß doch demgegenüber betont werden, daß diese synthetische Fähigkeit der Zellen nach den Versuchen von Abderhalden eine beschränkte ist, und daß einige Aminosäuren, die integrierende Bestandteile des Eiweißmoleküls sind, aus einfachen stickstoffhaltigen und stickstofffreien Stoffen nicht gebildet werden können. Bisher ist es jedenfalls nicht gelungen, in Versuchen den eindeutigen Nachweis zu erbringen, daß man auch Tiere ohne Eiweiß oder alle das Eiweißmolekül konstituierenden Spaltprodukte erhalten kann.

In einer neueren Arbeit von Henriques und Andersen[1]) teilen die Verfasser mit, daß es gelungen ist, bei Versuchen mit Ziegenböcken und Hunden durch Injektion von Verdauungsprodukten, die durch Trypsin-Erepsinverdauung aus Fleisch hergestellt waren, bei Gegenwart von Zucker, Natriumacetat und einem Salzgemisch (Na-, K-, Ca-, Mg-Ionen) die Tiere nicht nur ins Stickstoffgleichgewicht zu bringen, sondern auch Gewichtszunahmen zu bewirken. Da bei den bisherigen Versuchen über parenterale Ernährung der Beweis für die Verwertung intravenös zugeführter Aminosäuren usw. nicht eindeutig erbracht werden konnte, so scheinen die günstigen Resultate, die die Verfasser bekommen haben, auf die Beigabe von Salzen mit zurückzuführen zu sein.

Bisher schrieb man die Stickstoffretentionen, die mit einfachen stickstoffhaltigen Verbindungen beim Wiederkäuer erhalten wurden, einer Wirkung der Bakterien im Verdauungstraktus dieser Tiere zu. Da ich mit dem stickstofffreien Natriumacetat gleichfalls N-Retentionen beim Wiederkäuer nachweisen konnte, so ist ein Teil der Retentionen auch bei diesen Tieren wohl in anderer Weise zu erklären, ja es kann sogar die Frage sein, welcher von beiden Vorgängen, die stickstoffsparende Tätigkeit der Bakterien oder des Salzes als solches, der primäre ist. Denn wenn auch von Max Müller, Fingerling u. a. der Beweis der günstigen Wirkung der Bakterien

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 88, 357.

auf die Stickstoffbilanz bei Amidfütterung wohl erbracht ist, so ist man doch bisher noch nicht über den Umfang dieses bakteriellen Prozesses orientiert.

In letzter Linie muß nach meinen Versuchen von neuem gesagt werden, daß bei Beurteilung des N-Stoffwechsels nach der N-Bilanz mit größter Vorsicht zu verfahren ist. Es erscheint nicht angängig, aus Stickstoffretentionen, die man durch Gaben stickstoffhaltiger Salze z. B. erzielt hat, einfach zu schließen, daß der Stickstoff der Salze für die Konstitution des Eiweißmoleküls verwendet worden ist. Denn da ich die N-Bilanz, wie ich durch viele Versuche gezeigt habe, auch mit dem stickstofffreien essigsauren Natron in ähnlicher Weise wie mit stickstoffhaltigen Salzen zu beeinflussen vermochte, ja zum Teil sogar noch in größerem Maße, so ist wohl zunächst anzunehmen, daß es sich hier um identische Wirkungen handelt. Denn wenn man annehmen wollte, daß es sich hier zwar um denselben Effekt, aber um verschiedene intermediäre Vorgänge handelt, so müßte man dafür wohl zunächst den Beweis erbringen. Solange dieser aber noch aussteht, sind alle Schlüsse, die man über die synthetische Fähigkeit der Zellen, aus einfachen stickstoffhaltigen und stickstofffreien Stoffen Organeiweiß zu bilden, ziehen zu müssen geglaubt hat, auch trotz der Versuche von Grafe und seiner neuerdings wieder aufgestellten Behauptung[1]): „Mithin läßt sich wohl mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit behaupten, daß es sich bei den mit Ammoniaksalzen und Harnstoff erzielten dauernden N-Retentionen um Ansatz eiweißartiger Substanzen handelt“ nichts weniger als beweiskräftig.

Es wird noch vieler Versuche bedürfen, um Klarheit in den Mechanismus des Stickstoffumsatzes unter der Einwirkung von Salzen, stickstoffhaltigen wie stickstofffreien, zu bringen. Auf Grund des bisher vorliegenden experimentellen Materials kann man meiner Meinung nach heute nur allgemein von stickstoffsparenden Salzwirkungen sprechen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 88, 402.

Quantitative Bestimmungen der Cholesterinstoffe nebeneinander.

(Nachtrag zum I. und II. Teil dieser Arbeit.[1])

Von

J. Lifschütz in Hamburg.

(Eingegangen am 27. März 1914.)

Nachdem die spektralanalytischen Methoden zu quantitativen Bestimmungen des Cholesterins und Oxycholesterins in den tierischen Organen und Geweben bei ihrer praktischen Anwendung in zahlreichen Fällen sich gut bewährt haben, möge hier die Mitteilung einiger neuerer Erfahrungen und Beobachtungen ihren Platz finden.

Bei der Veröffentlichung der oben zitierten analytischen Arbeiten habe ich mich bestrebt, die Brauchbarkeit der dort niedergelegten Methoden für quantitative Zwecke an der Hand zahlreicher vergleichender Versuche und Beispiele darzutun. Es wurde dabei der ausführliche Beweis geführt, daß

1. die Spektralintensitäten der letzten Reaktionsstadien der Liebermannschen Acetanhydrid-Schwefelsäure-Reaktion (Cholestolreaktion) der Cholesterinstoffe sowie der Essigschwefelsäure-Reaktion des Oxycholesterins direkt proportional sind dem jeweiligen Gehalt der bekannten grünen Reaktionsgemische an den betreffenden Cholesterinstoffen resp. an Oxycholesterin; und

2. daß die Acetanhydrid-Schwefelsäure-Reaktion (Cholestolreaktion) des Oxycholesterins ihrem Wesen und dem Umfange ihrer Intensität nach identisch ist mit derselben Cholestolreaktion des Cholesterins.

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. I. Teil (Oxycholesterin) 48, 373 bis 407, 1913; II. Teil (Cholesterin) 54, 212 bis 235, 1913; ein III. Teil (Cholesterinester) ist in Bearbeitung.

Aus diesen zwei Sätzen wurde folgender Schluß gezogen und experimentell bestätigt: da nämlich das Oxycholesterin sich zu Acetanhydrid-Schwefelsäure (Cholestolreaktion) genau so verhält wie das Cholesterin selber, so läßt sich in einem Gemisch dieser beiden Cholesterinstoffe durch genaue Messung der Spektralintensität seiner Cholestolreaktion an der des reinen Cholesterins zunächst die volle Gesamtsumme beider Cholesterinstoffe ermitteln. Bestimmt man nun das Oxycholesterin des Gemisches für sich allein durch Messung der Spektralintensität seiner Essigschwefelsäure-Reaktion[1]) an der des reinen Oxycholesterins[2]) und zieht den so ermittelten Oxycholesterinwert von jener Gesamtsumme der Cholesterinstoffe ab, so ergibt die Differenz den wirklichen Cholesteringehalt des Gemisches.

Zum Beweis, daß die spektrometrisch so ermittelten Werte beim Cholesterin an und für sich, d. h. in Abwesenheit von Oxycholesterin (z. B. im Fette der Leber) wirklich brauchbare Zahlen liefern, wurden die letzteren unter anderen Parallelversuchen auch mit den gewichtsanalytisch in denselben Fetten durch Fällen des Cholesterins mit Digitonin erzielten Zahlen verglichen und regelmäßig als miteinander gut übereinstimmend befunden[3]). In den Fällen jedoch, wo auch Oxycholesterin zugegen ist, z. B. im Fette des Blutes, konnte dies freilich nicht geschehen, und zwar weil, wie dort durch Versuche dargetan wurde[4]), neben Cholesterin durch Digitonin auch Oxycholesterin teilweise ausfällt, indem es gleichfalls mit diesem Saponin eine in Weingeist schwerlösliche Verbindung eingeht. Bei näherer Erwägung konnte aber auch dieser unwillkommene Umstand mit Vorteil als fernerer Beweis der Brauchbarkeit der spektralanalytischen Methoden zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins und des Oxycholesterins nebeneinander herangezogen werden:

[1]) Diese Farbreaktion kommt nur dem Oxycholesterin zu; das Cholesterin beteiligt sich an ihr nicht.

[2]) Die künstliche Herstellung und Reinigung des Oxycholesterins ist im eingangs zitierten I. Teil dieser Arbeiten eingehend beschrieben. (Diese Zeitschr. 48, 397 bis 406, 1913.)

[3]) Diese Zeitschr. 25, 426, 1910; 52, 209, 1913 und diese Arbeit weiter unten.

[4]) Diese Zeitschr. 54, 215 und 216, 1913.

Unter der Voraussetzung nämlich, daß Digitonin das Cholesterin aus seinen alkoholischen Lösungen auch neben Oxycholesterin nahezu vollständig als unlösliches Digitonin-Cholesterid niederschlägt, könnte man in einem Teile des gut getrockneten und genau gewogenen Niederschlags das nur teilweise mit ausgefällte Digitonin-Oxycholesterid spektrometrisch durch seine Essigschwefelsäure-Reaktion leicht bestimmen. Nach Abzug des so ermittelten Oxycholesterinwertes von der bei der Wägung des Gesamtniederschlages gewonnenen Cholesterinzahl müßte man — genau genommen, unter Berücksichtigung der elementaren Zusammensetzung des Oxycholesterins[1]) — den eigentlichen Cholesteringehalt des zu untersuchenden Stoffes erhalten können.

In der Tat ergaben auch die betreffenden Analysen die volle Bestätigung der bereits vielfach erörterten Brauchbarkeit der spektrometrischen Verfahrungsweisen zu quantitativen Zwecken bei den Bestimmungen der Cholesterinstoffe nebeneinander. Aus einer großen Reihe dieser Analysen seien einige herausgegriffen und hier wiedergegeben.

Vergleichende spektrometrische und gewichtsanalytische Cholesterinbestimmungen neben Oxycholesterin.

Reihe A.

I. Spektrometrie

der Cholesterinstoffe des Rinderblutes.

Analyse 1. Cholesterin + Oxycholesterin-Bestimmung[2]).

Grundlösung C: in Chloroform mit 0,1495 % reinen Cholesterins (Testlösung).

Grundlösung U: in Chloroform mit 0,2860 % der Alkohole.

[1]) $C_{26}H_{44}O_2$ oder $C_{27}H_{46}O_2$. Eine Reihe von Elementaranalysen des Oxycholesterins, die demnächst zur Veröffentlichung gelangen sollen, stimmen gut zu diesen Formeln (zur zweiten Formel — scheinbar besser). Da ich bislang an diesem Körper weder die Reaktionen der Aldehyde noch die der Ketone beobachtet habe, so dürfte wohl die Bezeichnung „Oxycholesterin", die seine alkoholische Natur andeutet, als berechtigt erscheinen.

[2]) Siehe diese Zeitschr. 54, 212 bis 235, 1913. Unter Hinweis auf diese Arbeit übergehe ich der Kürze halber die Einzelheiten der Vorbedingungen zur Handhabung der Spektrometrie und schreite zur direkten Wiedergabe der eigentlichen Analysen.

Je 1 ccm der Grundlösungen wurden, wie im eingangs zitierten II. Teil dieser Arbeit eingehend beschrieben, mit je 2 ccm Acetanhydrid und je 0,25 ccm Essigschwefelsäure (1 Vol. Schwefelsäure + 10 Vol. Eisessig = 1 Tropfen H_2SO_4) vermischt. Die gleichweiten Reagensgläser, in denen die Reaktionsgemische hergestellt wurden, wurden geschlossen und in ein mit Wasser von 35° C gefülltes Becherglas gestellt, wo sie bei dieser Temperatur 15 Minuten verweilten[1]). Hierauf wurden die Gläser in ein mit Wasser von Zimmertemperatur gefülltes Becherglas gestellt, bis die Gemische auf diese Temperatur abgekühlt wurden, was 15 bis 20 Minuten dauert, und dann vor das Vergleichsspektroskop (mit gerader Durchsicht) gespannt. Es ergab sich dabei, daß das Reaktionsgemisch der Testlösung (*C*) eine wesentlich intensivere Spektralabsorption zeigte als die des Gemisches der Blutalkohole (*U*). Ersteres Gemisch wurde dann vorsichtig mit kleinen Portionen Eisessig nach und nach so lange verdünnt, bis es die Intensität der Absorption des anderen Gemisches (*U*) erreicht hat und die beiden Absorptionsstreifen in einen einzigen homogenen Streifen zusammenfielen. Es wurden dabei 1,30 ccm Eisessig verbraucht. Durch die Herstellung der Reaktionsgemische und die Verdünnung des einen von ihnen entstanden folgende Mengen und Konzentrationen:

aus der Grundlösung *C*

Gemisch *c*: 4,55 ccm mit 0,06286% reinen Cholesterins

und aus Grundlösung *U*

Gemisch *u*: 3,25 ccm mit 0,04600% der Blutalkohole.

---

[1]) Solange es sich um das Studium dieser komplizierten Reaktion in ihren einzelnen Phasen und um die Ermittlungen der für die Verwendbarkeit dieser Phasen zur quantitativen Spektrometrie geeigneten Momente handelte, erschien es geboten, jede Beschleunigung der Reaktion durch Temperaturerhöhung auszuschließen. Nun aber diese Schwierigkeiten erfolgreich überwunden sind, lag hierzu keine Veranlassung mehr vor und ich konnte dazu schreiten, die ermittelte dritte Phase der Reaktion unter Beschleunigung derselben durch Temperaturerhöhung zu erreichen: Zumal inzwischen Autenrieth bei seinen colorimetrischen „Bestimmungen des Gesamtcholesterins im Blute" durch die Liebermann-Burchardsche Reaktion unter denselben Temperaturverhältnissen gute Resultate erzielt hat. (Vgl. Münch. med. Wochenschr. **1918**, Nr. 23.)

Da nach Ausgleichung beider Spektralintensitäten in gleichen Raumeinheiten, wie nachgewiesen, gleiche Mengen von Cholesterin + Oxycholesterin enthalten sein müssen, so verhält sich der prozentuale Cholesterinstoffgehalt der Blutalkohole zu hundert, wie die entsprechenden Konzentrationen der beiden Lösungen zueinander.

Das heißt:

$$x : 100 = 4600 : 6286.$$

Mithin enthalten die Blutalkohole **73,17 % Cholesterin + Oxycholesterin.**

Analyse 2. Oxycholesterin-Bestimmung in den obigen Blutalkoholen.

Grundlösung *U* in Chloroform mit 0,572 % Alkohole.

" *O* " " " 0,0735 % Oxycholesterin (Testlösung).

Je 1 ccm beider Lösungen wurden, wie im I. Teil dieser Arbeit[1]) beschrieben, mit je 2 ccm **Essigschwefelsäure** (von dem oben angegebenen Mischungsverhältnis = 8 Tropfen H_2SO_4) vermischt und 10 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Hierauf wurden beide Gemische mit je 2 Tropfen 5 %iger Eisessig-Eisenchloridlösung versetzt und vorsichtig durchgeschüttelt. Vor das Vergleichsspektroskop gespannt, stellte sich heraus, daß die Absorptionsspektra (im Rot) in beiden Gläsern viel zu intensiv waren, um den Unterschied ihrer Intensitäten feststellen zu können. Beide Gemische wurden daher mit je 1 ccm Eisessig verdünnt, wobei der Absorptionsstreifen des Testgemisches etwas schwächer als der des zweiten Gemisches erschien. Letzteres wurde daher vorsichtig mit Eisessig bis zur Spektralintensität des ersteren verdünnt und verbrauchte dabei 0,25 ccm des Lösungsmittels. Es entstanden nunmehr die Gemische:

o: 4,05 ccm mit 0,01815 % Oxycholesterin und

u: 4,30 ccm mit 0,13300 % der Blutalkohole.

Nach der gleichen Berechnung wie bei der obigen Gesamtcholesterin-Bestimmung enthalten also die Blutalkohole **13,60 %** Oxycholesterin.

---

1) Diese Zeitschr. 48, 378ff., 1913.

Nach Abzug des so ermittelten Oxycholesteringehalts von der oben unter 1. ermittelten Summe der Gesamtcholesterinstoffe ergibt sich für den Gehalt der Blutalkohole an reinem Cholesterin + H_2O[1]: 73,17 — 13,60 = 59,57%. (Vgl. oben S. 223.)

II. Gewichtsanalyse

der gleichen unter I behandelten Cholesterinstoffe in den gleichen Rinderblutfett-Alkoholen.

Analyse 1. Cholesterinbestimmung als Digitonin-Cholesterid.

50,8 mg der Blutalkohole wurden zu 2% in 95%igem Alkohol gelöst, mit einer 1%igen Lösung von reinem Digitonin in 90% Alkohol warm vermischt und einige Stunden an einem kühlen Ort stehen gelassen. Das ausgefallene Digitonin-Cholesterid wurde dann abfiltriert, mit Weingeist gut ausgewaschen und bei 110° C bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Es lieferte 126,6 mg eines sehr weißen, silberglänzenden Cholesterids, das aber stark auch auf Essigschwefelsäure, also auf Oxycholesterin, reagierte. Auf reines wasserfreies Cholesterin berechnet[2], müßten die Blutalkohole **60,5%** reinen wasserfreien Cholesterins enthalten.

Zieht man von den obigen für diese Blutalkohole spektrometrisch ermittelten 59,57% wasserhaltigen Cholesterins den Wassergehalt (1 Mol.) = 2,65 ab, so beträgt der wasserfreie Cholesteringehalt nur 56,92%; also dem gewichtsanalytischen Befunde gegenüber um 3,58% weniger. Da aber die mit Digitonin erhaltene Doppelverbindung, wie gesagt, auch auf Oxycholesterin mit Essigschwefelsäure stark rea-

---

[1]) Aus praktischen Gründen pflege ich für die Cholesterin-Testlösung reines Cholesterin, das 1 Mol. H_2O enthält, zu verwenden. Es ist dies um so ratsamer, als die Moleküle des Cholesterins z. B. ($C_{26}H_{44}O + H_2O$) und des Oxycholesterins ($C_{26}H_{44}O_2$) einander nahezu gleich sind. Es kann demnach das in der Analyse 1 als Cholesterin mitbestimmte Oxycholesterin — nach seiner (in Analyse 2) direkten Ermittelung — als solches ohne weitere Berechnung von der Summe des Gesamtcholesterins abgezogen werden.

[2]) Diese Doppelverbindung enthält 24,3% Cholesterin. Vgl. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, 240, 1909 und Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 110, 1910.

gierte, so ist diese Differenz zwischen den beiden Analysen erklärlich[1]).

Bei der hohen spektralen Empfindlichkeit der Essigschwefelsäurereaktion auf Oxycholesterin und der daraus sich ergebenden Handlichkeit der quantitativen spektrometrischen Ermittlung dieses Cholesterinderivats neben Cholesterin konnte es hier nicht schwer fallen, die soeben geäußerte Erklärung jener Differenzen zwischen den obigen beiderseitigen Cholesterinwerten durch die spektrometrische Ermittlung des Oxycholesterins in dem darauf reagierenden Digitonin-Cholesterid zu prüfen. Daß die Differenz obiger Befunde tatsächlich von einem teilweisen Mitausfallen des Oxycholesterins der Blutalkohole mit dem Cholesterin durch Digitonin herrührt, geht aus der folgenden Analyse hervor:

Analyse 2. Bestimmung des Oxycholesterins im Digitonin-Cholesterid[2]).

Da das Digitonin-Cholesterid in indifferenten Lösungsmitteln nur schwer oder ganz unlöslich und nur in Eisessig leicht löslich ist, so wurden die „Grundlösungen" der beiden zu vergleichenden Substanzen für diese spektrometrische Analyse in Eisessig hergestellt. Und zwar:

Grundlösung *D* mit 2,552 % des Digitoin-Cholesterids.
" *O* " 0,0735 % reinen **Oxycholesterins.**

Die Herstellung der Reaktionsgemische mit Essigschwefelsäure und Eisenchlorid wurden genau so, wie oben unter I Ziffer 2 S. 223 bei der dortigen Oxycholesterinbestimmung hergerichtet und ihre Absorptionsspektra in derselben Weise durch Verdünnung der stärkeren Lösung mit Eisessig bis zur Spektral-

---

1) Nach Abzug des Oxycholesteringehalts vom gewogenen Digitonin-Cholesterid würde, falls dieser Oxycholesteringehalt größer ist als der Wassergehalt des spektrometrischen Befundes, diese Differenz nach der anderen Seite ausfallen und den Digitonin-Cholesteridbefund gegenüber dem spektrometrischen kleiner erscheinen lassen. Diese Differenzen der beiden Befunde könnten sich unter Umständen auch gegenseitig aufheben und scheinbar übereinstimmen, wenn der H_2O-Gehalt des spektrometrischen Wertes dem Oxycholesteringehalt der Gewichtsanalyse gleich kommt.

2) Da es bis jetzt ein gewichtsanalytisches Verfahren für diese Bestimmung nicht gibt, so mußte, wie gesagt, das Oxycholesterin hier spektrometrisch ermittelt werden.

gleichheit mit der schwächeren Lösung ausgeglichen. Es entstanden nun die Gemische:
d: 3,05 ccm mit 0,8367 % des Digitonin-Cholesterids und
o: 6,50 ccm mit 0,0113 % reinen **Oxycholesterins.**

In der oben (S. 224) angedeuteten Weise berechnet, ergibt sich für das Digitonin-Cholesterid ein Oxycholesteringehalt von 1,35 %[1]). Zwei Wiederholungen dieser Analysen ergaben: 1,33 und 1,34 %; im Mittel: **1,34 %**.

Zieht man diesen Oxycholesteringehalt, nachdem man ihn auf die gewichtsmäßig erhaltenen 60,5 % Cholesterin der Blutalkohole umgerechnet hat (= 3,34 %[2]) von dieser Zahl ab, so ergibt sich auch durch diese (korrigierte) Gewichtsanalyse für die Blutalkohole ein Cholesterinwert, der mit dem spektrometrisch ermittelten gut übereinstimmt.

Folgende Zusammenstellung möge dies dartun:

Die Digitoninfällung

gab in 100 Teilen der Blutalkohole:

wasserfreies Cholesterin + Oxycholesterin	60,50 T.
hiervon Oxycholesterin abgezogen	3,34 „
bleiben für wasserfreies Cholesterin . . .	57,16 T.
hierzu 1 Mol. H_2O	2,68 „
mithin Reincholesterin + H_2O	**59,84** T.

Die Spektrometrie

gab in 100 Teilen derselben obigen Blutalkohole:

wasserhaltiges Cholesterin + Oxycholesterin	73,17 T.
hiervon Oxycholesterin abgezogen	13,60 „
bleiben für Reincholesterin + H_2O . . .	**59,57** T.

Also ein Befund, der fast genau mit dem bei der durch Abzug des Oxycholesteringehalts von der Digitoninfällung erhaltenen Cholesterinwert übereinstimmt.

Dieses vergleichende Resultat ist wiederholt an den Blutalkoholen des Rindes und des Hundes mit gleichem Erfolg erhalten worden.

---

[1]) oder ein Digitonin-Oxycholesteridgehalt von rund 5,5 %.

[2]) Der Fehler, der durch das etwas größere Oxycholesterinmolekül hier entsteht, ist für diese relativ kleine Zahl unbedeutend und daher auf das Resultat ohne wesentlichen Einfluß.

Die Trennung des Digitonin-Oxycholesterids vom Cholesterid durch längeres Auswaschen mit 95% oder 90% Alkohol ist mir bis jetzt nicht gelungen. Selbst bei Verwendung von 100 bis 150 Teilen des Waschalkohols auf 1 Teil des Digitonin-niederschlages enthielt dieser in zahlreichen Versuchen mit Tier- bzw. Menschenblut — je nach dem Oxycholesteringehalt der Blutalkohole — 5, 10, ja mitunter auch 15% Digitonin-Oxycholesterid. Ein zu langes Auswaschen des Niederschlages ist jedoch auch nicht zu empfehlen, da man dabei wesentlich geringere Cholesterinwerte zu erhalten pflegt[1]).

Zur Prüfung des aus den tierischen Organen und Geweben mit Digitonin niedergeschlagenen Cholesterids auf seinen etwaigen Gehalt an Digitonin-Oxycholesterid ist zu bemerken, daß, da letzteres zu nur einem Viertel aus Oxycholesterin besteht, zu dieser Prüfung keine zu kleine Menge des Niederschlages verwendet werden darf. Bei der hohen Empfindlichkeit der Oxycholesterinreaktion (mit Essigschwefelsäure[2]) reichen jedoch 15 bis 25 mg des trockenen Niederschlages für eine Prüfung aus. Die Substanz wird in ca. 2 ccm Eisessig bei gelindem Erwärmen gelöst, die kalte klare Lösung mit 5 bis 8 Tropfen H_2SO_4 vermischt und etwa 10 Minuten stehen gelassen. Die Lösung färbt sich dann blau- oder rotviolett und wird auf Zusatz von 2 Tropfen 5%iger Eisenchlorid-Eisessiglösung rein grün. Substanz, wie alle Reagenzien müssen völlig wasserfrei sein. Sind Substanz, Menge und Volumen des Reaktionsgemisches genau bekannt, so läßt sich bei dieser sonst qualitativen Untersuchung des zu prüfenden Cholesterids auf Oxycholesterin, dieses — sogar annähernd genau — durch Verdünnen der grünen Lösung oder eines Teiles (z. B. 1 ccm) davon mit einer genau zu messenden Menge Eisessig bis zum Beginn des Verschwindens des Absorptionsstreifens aus dem roten Spektralfelde, auch quantitativ bestimmen[3]).

[1]) Das bei 110° getrocknete Cholesterid sieht dann zwar noch weiß, aber nicht mehr glänzend, sondern matt und körnig aus.

[2]) In einer Eisessiglösung, die nur 0,003% Oxycholesterin enthält, erscheint noch die Reaktion, namentlich bei nachträglichem Zusatz von 2 Tropfen Eisenchloridlösung (5%iger), in Farbe und Spektrum ganz deutlich und zweifelsfrei.

[3]) Siehe „Spektrometrie durch Minimalabsorption". Diese Zeitschr. 48, 395, 1913.

Reihe B.

Bestimmung des Cholesterins und Oxycholesterins in einem Gemisch ihrer Digitoninkomplexe.

Die Zweckdienlichkeit einer Prüfung des durch Digitoninfällung aus den Alkoholen der tierischen Fett- und Wachsgebilde erhaltenen Digitonin-Cholesterids ergibt sich aus dem oben Gesagten von selbst. Es dürfte aber häufig auch von Interesse sein zu erfahren, ob der Cholesteringehalt des Digitoninniederschlages wirklich dem theoretischen Werte entspricht und nicht etwa durch einen Überschuß an Digitonin, der sich ja bei der Fällung — da die Menge des zu fällenden Cholesterins unbekannt zu sein pflegt — nicht vermeiden läßt, oder auch durch sonstige Umstände wesentlich beeinträchtigt ist. Die Isolierung des Cholesterins aus der Digitonin-Doppelverbindung ist nicht so einfach und führt — zumal bei den geringen Mengen, um die es sich meistens handelt — nicht immer zum Ziel. Es erschien daher lohnend, dem naheliegenden Gedanken nachzugehen: wie oben das Oxycholesterin, so auch hier das Cholesterin im Digitoninniederschlag spektrometrisch zu bestimmen. Die experimentelle Ausführung dieses Gedankens brachte auch nach einer längeren Versuchsreihe die befriedigende Möglichkeit seiner Verwirklichung.

Bei diesen Versuchen hatte man mit zwei Eigentümlichkeiten der Acetanhydrid-Schwefelsäurereaktion des Cholesterins (Cholestolreaktion) gegenüber der Essigschwefelsäurereaktion des Oxycholesterins zu rechnen: 1. beträgt die spektrale Empfindlichkeit der ersteren Reaktion nur $^1/_8$ bis $^1/_4$ der letzteren, so daß man bei einer etwaigen spektrometrischen Ermittelung des Cholesteringehaltes des Digitonin-Cholesterids von vornherein mit der Verwendung einer größeren Substanzmenge zu rechnen hat als bei der Ermittelung des Oxycholesterins. 2. ist der bereits oben erwähnte Umstand der Unlöslichkeit des Digitonin-Cholesterids in Chloroform, der dazu zwingt, die Cholestolreaktion für die Analyse mit Acetanhydrid und H_2SO_4 in Eisessiglösungen anstatt in Chloroformlösungen hervorzurufen, auf den Gang der Spektralanalyse bei der Cholesterinbestimmung von wesentlich größerem Einfluß als bei der analogen Analyse des Oxycholesterins vermittels Essigschwefelsäure und Eisenchlorid.

Während es bei dieser letzteren Reaktion für unsere Spektrometrie ziemlich gleichgültig ist, ob man die Essigschwefelsäure[1]) mit einer Chloroformlösung oder mit einer Eisessiglösung der auf Oxycholesterin zu prüfenden Substanz zusammenmischt, ist dies bei der Cholestolreaktion nicht der Fall: Weder die Entwicklungsdauer noch die Intensität der Essigschwefelsäurereaktion auf Oxycholesterin leiden in merklichem Grade durch die Verwendung des Eisessigs anstatt Chloroform als Lösungsmittel für das Oxycholesterin. Dagegen verläuft die Cholestolreaktion mit Acetanhydrid und Schwefelsäure viel träger in einer Eisessiglösung des Cholesterins als in einer Chloroformlösung. Führt man daher die Acetanhydrid-Schwefelsäurereaktion mit einer „Grundlösung" von Cholesterin in Eisessig aus, läßt die Reaktion in einer Hälfte des Gemisches bei 35° C und in der anderen Hälfte bei gewöhnlicher Zimmertemperatur vor sich gehen und vergleicht nach etwa 15 Minuten die beiden Reaktionsgemische miteinander, so findet man, daß die Reaktion in der Wärme nicht wesentlich rascher vor sich gegangen ist als bei gewöhnlicher Temperatur. Vielmehr erreicht die Cholestolreaktion in einer Grundlösung von Eisessig ihre höchste Intensität in Farbe und Spektrum erst nach etwa 4 Stunden, gleichviel, ob sie bei 35° C oder bei gewöhnlicher Temperatur eingeleitet worden ist. Dagegen erreicht diese Reaktion in einer Chloroformgrundlösung ihre höchste Entwicklungsstufe, wenn sie (wie oben, S. 222) bei 35° C eingeleitet wurde, schon nach 15 bis 20 Minuten und bei gewöhnlicher Temperatur nach $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ Stunden[2]).

---

[1]) 1 Vol. H_2SO_4 + 10 Vol. Eisessig.

[2]) Die Anschauung: das Chloroform wirke in der Liebermann-Burchardschen Cholestolreaktion lediglich als „Lösungsmittel" für das Cholesterin und beteilige sich nicht am Chemismus der Reaktion, scheint hiernach doch nicht ganz zutreffend zu sein. Denn wäre dies der Fall, so wäre doch nicht einzusehen, weshalb Eisessig, der eine ebenso vollkommene Cholesterinlösung wie Chloroform liefert, sich bei der Cholestolreaktion, trotzdem er nicht zu den indifferenten Lösungsmitteln gehört, viel indifferenter verhält und viel träger wirkt als das „indifferente" Chloroform. (Vgl. hierüber: Autenrieth, Zur Kenntnis der Liebermannschen Cholestolreaktion. Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 32.)

Indessen kann man, diesem Umstand Rechnung tragend, auch den Cholesteringehalt des Digitonin-Cholesterids spektrometrisch ermitteln. Folgendes Beispiel möge dies bestätigen:

Das Unverseifbare (Alkohole) aus einem menschlichen Venenblutfette wurde in alkoholischer Lösung mit einer Digitoninlösung gefällt und ergab ein auf Oxycholesterin recht stark reagierendes Digitonin-Cholesterid. Als reines Cholesterin gedacht und darauf berechnet, betrug es **65,9%** der Alkohole. Der Oxycholesteringehalt dieser Blutalkohole betrug **18,3%**. Die

Analyse 1: Bestimmung des Oxycholesterins im obigen Digitonin-Cholesterid,

wurde wie folgt bewerkstelligt:

67,6 mg des bei 110° C konstant getrockneten Cholesterids wurden im Reagensglase in wenig Eisessig bei gelinder Wärme gelöst, die klare Lösung nach dem Erkalten in ein Maßkölbchen von genau 5 ccm Inhalt gebracht, das Reagensglas mit kleinen Mengen Eisessig gut ausgespült und damit das Kölbchen bis zur Marke aufgefüllt. Die so entstandene Lösung enthielt also 1,352% des Cholesterids und wurde als Grundlösung für die spektrometrischen Messungen in folgender Weise unter Vergleichung mit einer Testlösung des reinen Oxycholesterins in Eisessig benutzt:

Grundlösung *D* mit 1,352% des **Digitonin-Cholesterids** in Eisessig;

Grundlösung *O* mit 0,0735% Oxycholesterin in Eisessig (Testlösung).

Die Reaktionsgemische aus beiden Grundlösungen mit Essigschwefelsäure und Eisenchloridlösung wurden genau so hergestellt, wie unter A I Ziffer 2 S. 223 angegeben ist, und ihre Absorptionsspektra in derselben Weise durch Verdünnung der stärkeren Lösung mit Eisessig bis zur Spektralgleichheit mit der schwächeren Lösung ausgeglichen[1]). Es entstanden dabei die Gemische:

d: 3,05 ccm mit 0,4432% des Digitonin-Cholesterids und

o: 5,55 ccm mit 0,01324% Oxycholesterin.

---

[1]) Die 3,05 ccm dieses Gemisches verbrauchten dabei 2,5 ccm Eisessig.

In der oben (S. 223) angedeuteten Weise berechnet, ergibt sich für das obige Digitonin-Cholesterid ein Oxycholesteringehalt von **2,98%**[1]).

Da nun die Blutalkohole 65,9% Cholesterin und 18,3% Oxycholesterin enthielten, so bedeutet der obige Oxycholesteringehalt des daraus erhaltenen Digitoninniederschlages, auf die Blutfettalkohole bezogen, rund 8% dieser Alkohole. D. h. nahezu die Hälfte (ca. 44%) des in den Blutalkoholen enthaltenen Oxycholesterins war mit dem Cholesterin durch Digitonin mit ausgefällt.

Analyse 2: Bestimmung von Cholesterin im obigen oxycholesterinhaltigen Digitonin-Cholesterid.

Grundlösung *D* mit 1,352% des Cholesterids in Eisessig;

Grundlösung *C* mit 0,1495% reinen Cholesterins in Eisessig (Testlösung).

Je 1 ccm der Grundlösungen wurde in zwei gleich weiten Reagensgläsern (13 mm Durchmesser) mit je 2 ccm Acetanhydrid und je 0,25 ccm Essigschwefelsäure [gleich 1 Tropfen H_2SO_4 [2])] vermischt. Die beiden Gläser wurden geschlossen und in einem mit Wasser von gewöhnlicher Temperatur gefüllten Becherglase sich selbst überlassen. Nach etwa 4 Stunden erreichten die grüne Farbe sowie die Absorptionsspektra der beiden Reaktionsgemische ihre höchste Intensität. Vor das Vergleichsspektroskop gespannt, ergab es sich, daß das aus *D* herrührende Gemisch eine viel intensivere Spektralabsorption zeigte als das Testgemisch. Das erstere (stärkere) Gemisch wurde nach und nach so lange mit Eisessig verdünnt, bis sein Absorptionsspektrum (Streifen „*B* bis *C*" im Rot) die gleiche Intensität mit dem des Testgemisches erreicht hatte. Es verbrauchte dabei 4,25 ccm Eisessig.

Es entstanden nunmehr die Gemische:

d: 7,50 ccm mit 0,1802% des **Digitonin-Cholesterids** und

c: 3,25 ccm mit 0,0460% Cholesterin.

Mithin enthalten 100 Teile des Digitonin-Cholesterids:

---

[1]) oder ein Digitonin-Oxycholesteridgehalt von rund 12%.

[2]) Siehe oben S. 222.

Cholesterin (+ 1 Mol. H_2O) + Oxycholesterin . .	25,50 Teile
Abzüglich des oben gefundenen Oxycholesterins[1] .	2,98 „
verbleiben für wasserhaltiges Cholesterin . . .	22,52 Teile
Nach Abzug von 1 Mol. H_2O[2]	1,00 „
wasserfreies Cholesterin	21,52 Teile
Addiert man das Oxycholesterin wieder hinzu . .	2,98 „
so beträgt der Gehalt des obigen Digitonin-Cholesterids an wasserfreiem Cholesterin + Oxycholesterin	**24,50 %**,

ein Befund, der mit der Theorie (24,3 %) — auch unter Berücksichtigung des etwas größeren Oxycholesterinmoleküls — fast genau übereinstimmt.

Reihe C.

Digitonin-Oxycholesterid (aus künstlichem Oxycholesterin).

Mischt man eine 2 %ige Lösung von möglichst reinem Oxycholesterin in 95 %igem Alkohol mit einer 1 %igen Lösung von reinem Digitonin in 90 %igem Alkohol bei Wasserbadtemperatur in einem Verhältnis, daß auf 1 Teil Oxycholesterin 3 Teile Digitonin kommen, so beobachtet man schon im warmen Gemisch nach wenigen Sekunden ein schwaches Flimmern von weißen glänzenden Kryställchen, die sich zusehends vermehren und in kurzer Zeit die ganze warme Flüssigkeit durchsetzen. Nach 4 bis 5 stündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur vermehrt sich der Niederschlag wesentlich und bildet unter der gelblichen, klaren Lösung eine weiße, flaumige Krystallmasse. Auf dem Filter gesammelt, mit 95 %igem Alkohol gut ausgewaschen, abgesaugt und bei 70 bis 80° getrocknet, verfilzt sich die Substanz zu einer spröden Krystallkruste von

[1]) Oxycholesterin ist wasserfrei und ist daher in seinem Molekül fast gleich dem Cholesterin + 1 Mol. H_2O. Abgezogen wird es hier, um das H_2O vom reinen Cholesterin abziehen zu können.

[2]) Da das Cholesterin in dem untersuchten Komplex wasserfrei ist, die Testlösung aber mit wasserhaltigem Cholesterin hergestellt ist, so muß vom spektrometrisch ermittelten Wert 1 Mol. H_2O abgezogen werden, um ihn mit dem theoretischen Cholesteringehalt des Komplexes vergleichen zu können.

einem sehr schönen und hohen Silberglanz, die aus rhombischen Täfelchen besteht. Unter dem Mikroskop sieht die Substanz durchaus einheitlich aus und erinnert an die bekannten Cholesterintafeln[1]). Sie ist unlöslich in Wasser, sehr schwer löslich in absolutem Alkohol[2]), etwas leichter in wässerigem Alkohol, noch leichter in Methylalkohol, sehr schwer löslich in Chloroform und fast unlöslich in Äther und Kohlenwasserstoffen[3]). Beim anhaltenden Erhitzen auf etwa 100° färbt sie sich allmählich gelb. Beim raschen Erhitzen im feinwandigen Schmelzröhrchen verändert die Substanz erst gegen 200° ihre weiße Farbe, indem sie sich gelb färbt, fällt zwischen 200 und 210° zusammen und schmilzt sehr langsam unter Zersetzung zwischen 215 und 218° zu einer klar durchsichtigen, rotbraunen und dickflüssigen Masse, die langsam von den Wänden des Gläschens herunterfließt.

Die Ausbeute des Digitonin-Oxycholesterids beträgt 45 bis 50% vom angewendeten Oxycholesterin (auf reines Oxycholesterin berechnet, siehe weiter unten S. 235).

Nach Einengung des Filtrats scheidet sich eine weitere erhebliche Menge Substanz in weißen krystallinischen Flocken aus, deren weitere Untersuchung ermitteln soll, ob resp. inwieweit sie mit dem ursprünglich niedergefallenen Digitonin-Oxycholesterid identisch ist. Daß jedoch dieses Nachkrystallisat erhebliche Mengen des geschilderten Digitonin-Oxycholesterids enthält,

---

1) Da Digitonin-Cholesterid und auch Digitonin selber ganz andere, von diesen Tafeln ganz verschiedene Krystallformen besitzen, so läßt sich das mikroskopische Bild des Digitonin-Oxycholesterids vorteilhaft als Merkmal der Reinheit des verwendeten Oxycholesterins von etwaigen Cholesterinbeimengungen, sowie der Reinheit des Digitonin-Oxycholesterids von freiem Digitonin benutzen.

2) 100 Teile siedenden Alkohols lösen 0,1 bis 0,2 der Substanz, die sich beim Erkalten als leichte Flocken ausscheidet.

3) Im allgemeinen verhält sich Digitonin-Oxycholesterid zu Lösungsmitteln analog dem Cholesterid, zeigt jedoch eine mehr oder minder leichtere Löslichkeit als dieses. Besonders auffallend ist dieser Löslichkeitsunterschied zwischen den beiden Digitoninkomplexen in **Methylalkohol.** Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß man unter Anwendung dieses Lösungsmittels oder eines Gemisches desselben mit Äthylalkohol eine radikalere Trennung der beiden Komplexe voneinander wird herbeiführen können. Diesbezügliche und ähnliche Versuche sind im Gange, und ich hoffe demnächst darauf zurückzukommen.

scheint aus dessen mikroskopischem Bilde, das viel von jenen rhombischen Blättchen aufzuweisen pflegt, hervorzugehen.

Das molekulare Verhältnis des Oxycholesterins zum Digitonin in dieser Doppelverbindung dürfte aus folgenden Spektralanalysen folgen:

Analyse 1. 25,2 mg der bis zum konstanten Gewicht getrockneten Doppelverbindung wurden in wenig Eisessig bei gelinder Wärme gelöst, die Lösung im Maßkölbchen auf 5 ccm aufgefüllt und als „Grundlösung" *D* für die spektrometrische Analyse verwendet:

Grundlösung *D* mit 0,504 % **Digitonin-Oxycholesterid** in Eisessig.

Grundlösung *O* mit 0,0670 % **Oxycholesterin** in Eisessig (Testlösung).

Die grünen Reaktionsgemische für die Spektrometrie wurden in der oben (S. 223 und 230) angegebenen Weise hergestellt. Als beide Gemische vor das Vergleichsspektroskop gespannt wurden, ergab es sich, daß das Gemisch aus der Lösung *D* ein wesentlich intensiveres Absorptionsspektrum zeigte als das Testgemisch *O*. Ersteres Gemisch wurde mit Eisessig nach und nach verdünnt, bis die Spektralintensitäten beider Gemische ausgeglichen wurden. Es verbrauchte dabei 2,75 ccm Eisessig. Durch Mischung und Verdünnung entstanden so die Gemische:

d: 5,80 ccm mit 0,08689 % **Digitonin-Oxycholesterid** und
o: 3,05 ccm mit 0,02196 % **Oxycholesterin.**

Mithin enthält das Digitonin-Oxycholesterid: **25,27 % Oxycholesterin.**

Analyse 2 wurde mit einem Digitonin-Oxycholesterid vorgenommen, das aus einem Oxycholesterin einer neuen Darstellung hergestellt wurde und das nicht in der Wärme, sondern im Vakuum bis zum konstanten Gewicht getrocknet wurde.

Grundlösung *D*: 0,544 % des Digitonin-Oxycholesterids in Eisessig.

Grundlösung *O*: 0,067 % des Oxycholesterins (Testlösung) in Eisessig.

Die grünen Reaktionsgemische aus diesen Lösungen wurden wie oben bei Analyse 1 hergestellt. Auch hier war das Gemisch aus *D* in seinem Absorptionsspektrum wesentlich stärker als das Testgemisch *O*. Es verbrauchte zu seiner Verdünnung

3,20 ccm Eisessig, um zur Spektralgleichheit mit dem Testgemisch zu gelangen. Hierbei entstanden die Gemische:

d: 6,25 ccm mit 0,08704 % des Digitonin-Oxycholesterids und

o: 3,05 ccm mit 0,02196 % des Oxycholesterins, folglich enthielt die Doppelverbindung 25,23 % Oxycholesterin.

Wie bei den früheren Arbeiten sind auch hier die Messungen wiederholt worden, wobei sie übereinstimmende Werte lieferten.

I. Die Formel $\underbrace{C_{54}H_{92}O_{28}}_{\text{Digitonin}} + \underbrace{C_{27}H_{46}O_2}_{\text{Oxycholest.}}$ fordert 25,26 % Oxycholesterin.

II. Die Formel $C_{55}H_{94}O_{28} + C_{27}H_{46}O_2$ fordert 25,06 % Oxycholesterin.

Demnach zeigen die obigen, untereinander gut stimmenden spektrometrischen Messungen mit der Formel I eine größere Übereinstimmung. Auch die im Gange befindlichen Elementaranalysen kommen dieser Formel I am nächsten; jedoch kann auf diesem Wege die Frage, welcher von diesen Formeln eine größere Berechtigung zukommt, naturgemäß kaum entschieden werden. Soviel steht aber nach den obigen Zahlen fest, daß das in Rede stehende Digitonin-Oxycholesterid aus 1 Mol. Digitonin und 1 Mol. Oxycholesterin zusammengesetzt ist.

Um den Grad der Zuverlässigkeit dieser spektrometrischen Messungen zum ferneren Ausdruck gelangen zu lassen, seien hier einige dieser Analysen, die von den ersten Studien zur Herstellung eines zuverlässig reinen Digitonin-Oxycholesterids für die Elementaranalyse herrühren, wiedergegeben. Diese Analysen von einer weniger reinen Substanz sind hier insofern von Interesse, als sie mir zum Prüfstein der Reinheit der Substanz dienten und sich tatsächlich geeignet erwiesen, die Unzulänglichkeit der Reinheit der betreffenden Substanzen aufzudecken; sodann — weil diese Analysen einer und derselben Substanz, trotz Variierung der Konzentrationen der „Grundlösungen“ (des Oxycholesterids wie der Testlösung), dennoch gut übereinstimmende Werte lieferten.

Bei den ersten Versuchen, das Oxycholesterin mit Digitonin zu fällen, gelangte dieses dem Oxycholesterin gegenüber

in einem mehr oder minder größeren Überschuß zur Verwendung. Die mikroskopischen Bilder dieser Präparate waren auch demgemäß nicht einheitlich; neben den erwähnten rhombischen Blättchen tauchten auch in größerer oder geringerer Zahl kleine sternförmige Gebilde, die wohl von mitgerissenem Digitonin herrühren dürften, auf. Erst als ich mit dem überschüssigen Digitonin bis zum minimalen Verhältnis von je 1 Mol. der beiden Komponenten zurückging, gestaltete sich das mikroskopische Bild des Niederschlages rein und einheitlich, und das Präparat lieferte schließlich die obigen spektrometrischen Analysenwerte. Einige Analysen von den ersten Fällungen seien aus den erwähnten Gründen hier wiedergegeben.

Analyse 3.

Grundlösung *D* mit 0,236 % Digitonin-Oxycholesterid in Eisessig.

Grundlösung *O* mit 0,066 % Oxycholesterin in Eisessig (Testlösung).

Herstellung der Reaktionsgemische usw. wie in vorhergehenden Oxycholesterin-Analysen. Es entstanden so die Gemische:

d: 3,05 ccm mit 0,07738 % Digitonin-Oxycholesterid und

o: 3,50 ccm mit 0,01886 % Oxycholesterin.

Mithin Oxycholesterin in der Doppelverbindung: **24,37 %**.

Analyse 4: mit der Hälfte des obigen Digitonin-Oxycholesteridgehaltes und der gleichen Testlösung; also

Grundlösung *D* mit 0,118 % des Oxycholesterids,
„ *O* „ 0,066 % „ Oxycholesterins.

Die durch Mischen, Verdünnen usw. daraus entstandenen Reaktionsgemische waren

d: 3,05 ccm mit 0,03869 % der Doppelverbindung und
o: 7,00 „ „ 0,00943 % des Oxycholesterins.

Mithin Oxycholesterin der Doppelverbindung: **24,37 %**.

Analyse 5: mit der ursprünglichen Oxycholesteridlösung (der Analyse 3) und einer verdünnteren Testlösung:

Grundlösung *D* mit 0,236 % der Doppelverbindung,
„ *O* „ 0,051 % Oxycholesterin (Testlösung).

Die daraus hergestellten Reaktionsgemische, wobei diesmal nicht die Testlösung, sondern die zu prüfende Lösung mit 0,40 ccm Eisessig verdünnt werden mußte, waren

d: 3,45 ccm mit 0,0684 % der Doppelverbindung und
o: 3,05 " " 0,01672 % Oxycholesterin.

Folglich Oxycholesterin in der Doppelverbindung: **24,44 %**.

Wie eingangs dieser Arbeit erwähnt, sind die hier niedergelegten Resultate einer an sich schon stattlichen Anzahl analytischer Versuche unter den mannigfaltigsten Bedingungen, nur ein kleiner Auszug aus den überaus zahlreichen Ergebnissen jahrelanger Arbeiten. Die in Rede stehenden spektralanalytischen Verfahrungsweisen haben nunmehr seit Jahren nicht nur bei den Untersuchungen der Fettarten der eigentlichen Tiere, wie Rind und Hund, sondern auch bei denen vieler Proben von menschlichem Blut Verwendung gefunden und jedesmal die wiederholten und kombinierten Kontrollproben nach den oben angedeuteten Richtungen einwandfrei bestanden.

Soweit also menschliche Selbstkritik es zuzulassen vermag, darf ich wohl der Meinung sein, daß diese Methoden über das Stadium der Skrupel und Zweifel hinaus sind. Welch schätzbares Instrument diese einfachen und handlichen Methoden immerhin in der Hand eines Untersuchers abgeben, mag daraus folgen, daß es ohne sie schlechthin unmöglich gewesen wäre den Weg zur Herstellung und Reinigung des Oxycholesterins und seiner Digitonin-Verbindung zu finden, bezw. sich eine Vorstellung von den in den tierischen Organen und Geweben obwaltenden quantitativen Verhältnissen zwischen dem Cholesterin und seinem ersten „Verbrennungsprodukt“ zu verschaffen, was uns ja nunmehr mit leichter Mühe einen sicheren ersten Blick in den eigentlichen Chemismus des Cholesterinstoffwechsels gewinnen läßt. Außerdem gibt es bis jetzt neben dem spektrometrischen Verfahren überhaupt keine andere Möglichkeit, das Oxycholesterin, das in den tierischen Organen und Geweben (namentlich im Blute) in namhaften Mengen enthalten ist, quantitativ oder auch nur qualitativ zu ermitteln[1]).

---

[1]) Es ist zwar vorgeschlagen worden, das Oxycholesterin neben Cholesterin colorimetrisch durch seine grüne Cholestolreaktion quanti-

Da es nun bei biologischen und physiologischen Untersuchungen kaum gleichgültig sein kann, ob in irgendeinem Organ oder an irgendeiner Stelle der Blutbahn das darin enthaltene Cholesterin durch Aufnahme von Sauerstoff affiziert worden resp. wie groß diese Affektion ist im Verhältnis zum Gesamtcholesteringehalt, so müssen auch die Bestimmungen des Cholesterins selber — da wo Oxycholesterin zugegen ist — einer gewissen Korrektur durch Subtraktion des jeweiligen Oxycholesterinwertes unterzogen werden. Solange also eine scharfe quantitative Trennung dieser Cholesterinstoffe nicht vorliegt, wird man demnach auch bei manchen Cholesterinbestimmungen gezwungen sein, zum Spektroskop zu greifen, um den etwaigen, vom Oxycholesteringehalt herrührenden Fehler zu eliminieren. Denn, vernachlässigt man diesen Fehler, so ist der beispielsweise durch Digitoninfällung[1]) in Gegenwart von Oxycholesterin erhaltene Cholesterinwert in bezug auf das Gesamtcholesterin zu niedrig und in bezug auf Reincholesterin zu hoch, weil das Oxycholesterin mit Digitonin teilweise mit ausfällt.

Daß dieser Umstand den Wert des Digitoninverfahrens für die Cholesterinanalyse keineswegs herabsetzt, liegt auf der Hand; es muß nur dabei, wie gesagt, unter Umständen der leicht zu ermittelnde etwaige Oxycholesteringehalt des Niederschlages berücksichtigt werden, um den wahren Cholesteringehalt zu erhalten.

---

tativ zu bestimmen. Und zwar soll zunächst nach diesem Verfahren das Gesamtcholesterin colorimetrisch bestimmt werden. In einer anderen Portion soll das Cholesterin mit Digitonin niedergeschlagen, das Filtrat hiervon eingetrocknet, mit Chloroform aufgenommen und mit Acetanhydrid + H_2SO_4 darin die Cholestolreaktion hervorgerufen werden, die — colorimetrisch gemessen — den Oxycholesteringehalt angeben soll. Dieser Vorschlag beruht aber auf der irrtümlichen Voraussetzung, daß das Oxycholesterin mit Digitonin nicht mit ausfällt. (Vgl. Dr. med. E. Schreiber-Magdeburg, Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 36, S. 2001.) Daß dies aber keineswegs der Fall ist, sondern daß auch Oxycholesterin teilweise mit dem Cholesterin mit ausfällt, geht aus meinen früheren Arbeiten und auch aus dem obigen klar hervor. — Meine Versuche hierüber siehe diese Zeitschr. 54, 214 bis 216 und 52 die Fußnoten auf den S. 207 und 209, 1913.

[1]) Nach der in der Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 110, 1910 gegebenen Vorschrift.

D.

Verhalten des Oxycholesterins zu Alkalien und Säuren.

Daß das Oxycholesterin gegen Alkalien recht widerstandsfähig ist, folgt schon daraus, daß bei anhaltender energischer Behandlung von reinem Cholesterin mit kochender (6%iger) alkoholischer Kalilauge ein erheblicher Teil desselben in Oxycholesterin übergeht[1]). Dagegen ist es gegen Säuren sehr empfindlich[2]). Man beobachtet dies am besten an einer Eisessiglösung von bestimmtem Oxycholesteringehalt, wenn man von Zeit zu Zeit die Lösung auf den Umfang der Spektralintensität ihrer Essigschwefelsäure-Reaktion prüft, indem man sie mit einer frischen Eisessiglösung von reinem Oxycholesterin in der oben beschriebenen Weise spektrometrisch vergleicht. Man findet dann, daß sich die Reaktionsempfindlichkeit der sauren Lösung von Woche zu Woche merklich schwächt, bis sie auf Zusatz von H_2SO_4 gar nicht mehr reagiert. Noch bemerkenswerter ist folgende Beobachtung:

Ein nach dem an dieser Stelle (**48**, 400ff., 1913) beschriebenen Verfahren aus reinem Cholesterin durch Oxydation mit Benzoylsuperoxyd hergestelltes rohes Oxycholesterin, das von den bei der Oxydation entstandenen „Cholesterinsäuren" nicht weiter gereinigt, aber von der sauren Mutterlauge und auch von Benzoesäure frei war, wurde etwa 8 Monate aufbewahrt. Erst nach dieser Zeit wurde die an der oben zitierten Stelle vorgeschriebene weitere Reinigung des Rohproduktes mit alkoholischem Kali, Methylalkohol usw. behufs sorgfältiger Isolierung des Oxycholesterins vorgenommen. Als ich das nachträglich noch wiederholt mit kleinen Mengen Methylalkohol ausgezogene, nunmehr völlig rein sein sollende Oxycholesterin auf den Umfang seiner Spektralreaktion mit Essigschwefelsäure prüfte, war ich höchlich überrascht, nur gegen 45% der ursprünglichen Reaktionsempfindlichkeit feststellen zu können. Dabei sah die Substanz genau so aus wie reines Oxycholesterin. Es wurde auch in der oben angegebenen Weise mit Digitonin

---

[1]) Darmstaedter und Lifschütz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 1126, 1898.

[2]) Über die hohe Reaktionsfähigkeit des Oxycholesterins überhaupt, welche die des Cholesterins weit übertrifft, vergleiche man Zeitschr. f. physiol Chem. **58**, 183, 1908 und **63**, 230ff., 1909.

gefällt; gab aber im Niederschlag nur 30 bis 34% des Oxycholesterins wieder, anstatt 45 bis 50%, die ich aus reinem Oxycholesterin wiederholt erhalten hatte. Es unterliegt demnach keinem Zweifel, daß das ursprüngliche Oxycholesterin schon im trockenen und festen Zustande im Gemenge mit den Cholesterinsäuren sich bis zur Hälfte in ein anderes Neutralprodukt verwandelt hat, das die Essigschwefelsäure-Reaktion nicht mehr gibt. Dabei ist zu bemerken, daß das sonst frisch nach der Herstellung von den Säuren getrennte und mit Methylalkohol wiederholt gut ausgezogene Oxycholesterin selbst nach jahrelangem Lagern weder in seinen Spektralreaktionen, noch — wie die im Gange befindlichen Elementaranalysen zeigen — in seiner Zusammensetzung irgendwelche Veränderung erleidet.

Dieselbe Veränderung am Oxycholesterin beobachtet man auch, wenn man es mit Eisessig längere Zeit am Rückflußrohr kocht. Zieht man ab und zu kleine Proben von der Lösung und versetzt sie nach dem Erkalten mit einigen Tropfen H_2SO_4, so merkt man, wie die Farbreaktion nach und nach an Intensität und Farbenschönheit verliert, bis sie fast ganz verschwindet. Dasselbe geschieht auch mit dem an dieser Stelle beschriebenen sauren Teil[1]) des Oxydationsproduktes des Cholesterins, der die Essigschwefelsäure- wie die Cholestolreaktion noch gibt.

Nach welcher Richtung hin diese Veränderungen des eigentlichen neutralen Oxycholesterins sowie seiner sauren Nebenprodukte sich bewegen, ob sie etwa durch Aufnahme der Elemente des Wassers oder nur des Sauerstoffes allein sich vollziehen, werden hoffentlich die weiteren Untersuchungen dartun. Vielleicht werfen diese Untersuchungen auch auf das immer noch rätselhafte Verschwinden des Oxycholesterins aus der Leber[2]), sowie zum größten Teil auch aus dem Fette des Lebervenenblutes im Verhältnis zu dem des Pfortaderblutes[3]), ein aufklärendes Licht[4]).

---

[1]) Diese Zeitschr. 48, 404, 1913.

[2]) Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 226ff. und 229 bis 232, 1909.

[3]) Diese Zeitschr. 52, 208ff.

[4]) Unwahrscheinlich ist es ja nicht, daß diese Oxydationsprodukte des Cholesterins durch die Leberzellen in Gallensäuren und in ähnliche, die Fettresorption bedingende Produkte übergeführt werden. (Vgl. die in obiger Fußnote 2 zitierten Stellen.)

Diese Hoffnung erscheint um so berechtigter, als die erwähnten, bei der künstlichen Herstellung des Oxycholesterins mit Benzoylsuperoxyd entstehenden Säuren mit Digitonin Verbindungen geben, die wohl zur Aufklärung des Wesens und der Zusammensetzung dieser Säuren führen dürften. Hierzu kommt noch der beachtenswerte Umstand, daß auch die reine (bei E. Merck, Darmstadt, bezogene) Cholalsäure mit Digitonin in weingeistiger Lösung gleichfalls eine Verbindung liefert, die der einen jener Verbindungen der erwähnten Säuren so außerordentlich ähnlich ist, daß man geneigt sein muß, die beiden dem Ursprunge nach so verschiedenen Digitoninverbindungen für identisch zu halten. Eine eingehende Untersuchung dieser Erscheinungen ist im Gange und ich hoffe, in Bälde darüber Näheres berichten zu können.

Schlußsätze

zur Beachtung bei der Spektrometrie der Cholesterine.

1. Wie wir nunmehr an zahlreichen Beispielen, Analysen und vergleichenden Parallelversuchen gesehen haben, läßt sich das Cholesterin durch die grüne Acetanhydrid-Schwefelsäurereaktion mit derselben Leichtigkeit und in fast ebenso kurzer Zeit spektrometrisch quantitativ ermitteln, wie das Oxycholesterin durch seine gleichfarbige Essigschwefelsäure-Eisenchloridreaktion.

2. Da diese Reaktion 3 bis 4 mal empfindlicher ist als jene (Cholestol-)Reaktion, so ist für Cholesterinbestimmungen in zu untersuchenden Substanzen durch spektrale Messung ihrer Cholestolreaktion an der einer Testlösung von reinem Cholesterin, diese Testlösung in entsprechend konzentrierterer Form zu verwenden als die Oxycholesterin-Testlösung für Oxycholesterinbestimmungen.

3. Die in diesen Arbeiten als „Grundlösungen“ für die spektrometrischen Messungen bezeichneten Lösungen werden in Chloroform hergestellt. Als sehr praktisch haben sich folgende Konzentrationen bewährt:

a) **Oxycholesterin-Testlösung:** 0,05 g reines Oxycholesterin in 100 ccm Chloroform.

b) **Cholesterin-Testlösung:** 0,15 g krystallisiertes reines Cholesterin (mit 1 Mol. H_2O) in 100 ccm Chloroform.

c) Für die **Substanzlösungen**, in denen die Gesamtcholesterinstoffe ermittelt werden sollen, werden, falls es sich um das aus den Fetten und Wachsarten isolierte Unverseifbare (Alkohole) handelt, 0,15 bis 0,2 %ige Lösungen in Chloroform hergestellt[1]).

4. Diese Chloroformlösungen sind — in gut schließenden Glasgefäßen aufbewahrt — unbegrenzte Zeit haltbar und die darin gelösten Cholesterinstoffe unveränderlich. Man kann sich also füglich größere Mengen der Testlösungen vorrätig halten und sie bleiben bis zu ihrem vollständigen Verbrauch unverändert, falls sich nicht etwa nach längerer Zeit durch Verdunsten des Chloroforms ihr Substanzgehalt etwas erhöht. Ich pflege daher diese Testlösungen in den bekannten Reagensflaschen mit schmalem Hals, eingeschliffenem Glasstopfen und einer darüber gestülpten, am Rande gut abgeschliffenen Glaskappe, die ich am inneren Rande mit etwas Vaseline einreibe, aufzubewahren. Eine solche Flasche von 250 ccm Inhalt mit einer Cholesterintestlösung von 0,1495 % Substanzgehalt hatte noch nach 5 Monaten 0,1545 % Cholesterin: sie ist also um nur 0,005 % konzentrierter geworden. Ich pflege diese Lösungen jede Woche durch Bestimmung des Substanzgehalts nach dem Verdunsten von 20 ccm der Lösung und genauer Wägung zu kontrollieren. Nach der Kontrolle kann die Substanz wieder in 20 ccm Chloroform gelöst und der Testlösung wieder zugegeben werden. Ebenso unveränderlich ist die Oxycholesterintestlösung in Chloroform.

5. Enthält eine zu untersuchende Substanz nur kleine Mengen der Cholesterinstoffe (was namentlich bei Oxycholesterinbestimmungen in den tierischen Organen häufig vorkommt), so daß die Konzentration 0,15 bis 0,2 % der Substanz nicht ausreicht, so verfährt man folgendermaßen: 2 oder nötigenfalls auch 3 ccm der Substanzlösung werden in das für die Spektro-

---

[1]) Bei Bestimmungen der freien Cholesterinstoffe in den unverseiften Fetten neben ihren Estern (nach dem an dieser Stelle **54**, 233ff., 1913 angedeuteten Verfahren) sind die Fettlösungen in 2 bis 3 % in Acetanhydrid (für Cholesterinbestimmungen) oder in Eisessig (für Oxycholesterin) anzuwenden.

metrie bestimmte (kalibrierte) Reagensglas gebracht, das Chloroform durch Abkochen verjagt und der Substanzrückstand im Glase selbst bei gelinder Wärme getrocknet. Nach dem Erkalten wird der Rückstand durch Hineinlassen von 1 ccm Chloroform in das Reagensglas gelöst, so daß die Lösung nunmehr die doppelte oder die dreifache Konzentration der ursprünglich zu dünnen Lösung besitzt. Die Lösung kann dann in angegebener Weise gegen die Testlösung spektrometrisch gemessen werden. Diese — namentlich die 3fache — Konzentration reicht in der Regel selbst z. B. für den geringen Oxycholesteringehalt von nur 1 % der zu prüfenden Substanz aus.

6. Handelt es sich um Bestimmungen der Cholesterinstoffe in Substanzen, die in Chloroform unlöslich sind, wie z. B. in Digitonin-Cholesteriden, die nur in Eisessig leicht löslich sind, oder da, wo Chloroform aus anderen Gründen nicht angewendet werden kann, z. B. bei Bestimmungen der freien Cholesterinstoffe neben den Estern in Fetten[1]), so darf selbstredend auch die Testsubstanz nicht in Chloroformlösung, sondern nur in demjenigen Lösungsmittel zur Verwendung gelangen, in dem auch die zu prüfende Substanz gelöst werden kann. Zu diesem Ende wird 1 ccm der vorrätigen Chloroform-Testlösung im Reagensglas, wie oben (unter Satz 5), vom Chloroform befreit und zum Rückstand 1 ccm desjenigen Lösungsmittels hineingelassen, in dem die zu prüfende Substanz gelöst ist. Nachdem der Rückstand darin völlig gelöst ist, kann die Spektralmessung nach obiger Vorschrift weiter vor sich gehen.

7. Die Essigschwefelsäure wird aus 100 ccm Eisessig und 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure hergestellt. Dieses Gemisch ist, wenn es in absolut reiner Flasche mit ebenso reinen Maßgefäßen hergestellt wird, vollständig farblos und wasserhell[2]). Es ist unbegrenzt haltbar und hat sich als „Reagens" nicht bloß bei der Essigschwefelsäure-Reaktion auf Oxycholesterin, sondern auch bei der Liebermannschen Acetanhydrid-Schwefelsäure-Reaktion (als Zusatz anstatt H_2SO_4) ganz vortrefflich und in nie versagender Weise bewährt. 0,25 ccm des Reagens entsprechen 1 Tropfen H_2SO_4. Es hat den Vorzug vor der

[1]) Siehe oben: Fußnote 1 (S. 242) zu Satz 3c.

[2]) Bei leisester Verunreinigung pflegt sie sich schwach bräunlich zu färben, was aber für die Analyse belanglos ist.

reinen Schwefelsäure, daß es viel weniger hygroskopisch ist und daß es bei den obigen Reaktionen keinerlei unwillkommene Temperaturerhöhung in den Reaktionsgemischen hervorruft[1]).

8. Ein besonderer weiterer Vorzug der Spektrometrie der Cholesterine, wie der Spektrometrie überhaupt, gegenüber der Gewichtsanalyse ist, daß sie bei geringem Substanzaufwand eine Reihe von Fehlerquellen ausschaltet, die bei den zahlreichen Wägungen der Gewichtsanalyse von häufig nur sehr geringen Mengen ja unvermeidlich sind und die die Resultate in sehr erheblichem Grade beeinträchtigen; von der großen Ersparnis an Zeit, Kosten und Mühe schon gar nicht zu reden.

9. Selbstredend müssen alle für die Spektrometrie in Betracht kommenden Maßgefäße, Pipetten, Büretten u. dgl. vollständig übereinstimmen, was ja ohne erhebliche Kosten leicht erreichbar ist.

Berichtigung zum I. und II. Teil dieser Arbeiten: „Quantitative Bestimmungen der Cholesterinstoffe nebeneinander“

(diese Zeitschr. Bd. 48 und 54, 1913).

Band:	Seite:	Muß heißen:	Anstatt:
48	380 Zeile 7 u. 8 von oben	Reflexion	Refektion
48	389 Zeile 19 von unten	direkt proportional	umgekehrt proportional
54	220 Zeile 9 von unten	Ultraviolettende	Ultrarotende
54	223 Zeile 2 von unten	geschah	geschahen

---

[1]) Weniger gute Erfahrungen habe ich mit dem fertigen Gemisch von Acetanhydrid und Schwefelsäure gemacht. Dieses Gemisch ist von nur geringer Haltbarkeit und hat daher nach einiger Zeit nicht mehr die quantitative Wirkung auf Cholesterin.

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XVIII.

Die Proteinsalze verschiedener Säuren.

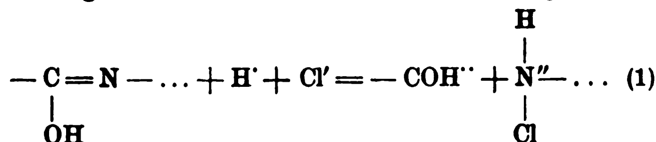
Von

Wolfgang Pauli und Max Hirschfeld.

(Eingegangen am 30. März 1914.)

Mit 9 Figuren im Text.

Die Art der Säurebindung an Eiweiß und der allgemeine Aufbau der so gebildeten Proteinsalze war noch bis vor kurzem strittig. Während St. Bugarsky und L. Liebermann[1]), W. B. Hardy[2]), W. Pauli[3]) u. a. für das Eiweiß einen Reaktionsmechanismus wie bei der Ammoniumsalzbildung unter Addition der Säure und Entstehen von Chloriden, Sulfaten, Acetaten usw. mit den betreffenden Säuren annahmen, gelangte T. B. Robertson[4]) zu der Vorstellung, daß die Säureaufnahme in das Proteinmolekül unter Zerfall desselben in entgegengesetzt geladene Proteinionen und Verschwinden der Ionen der Säure nach dem beistehenden Schema erfolge. Diese Auffassung stellt zugleich den Stickstoff der Peptidbindung als Eintrittsstelle der Säure in den Vordergrund und läßt für eine hydrolytische Dissoziation der Proteinsalze keinen Raum. Dabei soll die Peptidbindung nur in der Enolform mit Säure reagieren:



$$-\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{C}}=N-\ldots+H^{\cdot}+Cl'=-COH^{\cdot\cdot}+\overset{\displaystyle H}{\overset{|}{\underset{\displaystyle Cl}{\underset{|}{N''}}}}-\ldots \quad (1)$$

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 51, 1898.

[2]) Journ. of Physiol. 33, 251, 1905.

[3]) Fortschr. d. naturw. Forschung 4, 223, 1912; das. Literatur.

[4]) Die physikalische Chemie der Proteine 1912, Th. Steinkopff; das. Literatur.

Robertson sucht seine Anschauung nicht so sehr durch unmittelbar überzeugende Versuche als durch eine derselben entgegenkommende Deutung und Berechnung seiner Messungen zu stützen. Die an unserem Institute ausgeführte direkte experimentelle Prüfung von Robertsons Lehre hat gleichfalls die Bedeutung der Peptidbindung für die Säureaufnahme ergeben, allein in dem Hauptpunkte, ob die Ionisation der Proteinsalze in Paare von Bruchstücken des Eiweißkörpers stattfindet, fiel sie gegen Robertsons Reaktionsschema aus.

Zunächst muß man Robertson darin beistimmen, daß den älteren Titrationsversuchen ohne und mit Fällung des Eiweißes, die das Gleichgewicht in der Lösung verschieben, eine Beweiskraft für die Art der Säurebindung an Protein nicht zugemessen werden kann. Die einzigen direkten Untersuchungen aus früherer Zeit sind die vielgenannten elektrometrischen Messungen am Salzsäurealbumin durch Bugarsky und Liebermann, die einen Unterschied zwischen H- und Cl-Bindung zugunsten der ersteren anzeigten. Dieser Unterschied war jedoch nur in einem Versuche bei einer einzigen Eiweißkonzentration nachgewiesen, in allen anderen war er nicht vorhanden. Dieser mehr als dürftigen Grundlage der von Bugarsky und Liebermann entwickelten Ansichten über Bestehen und Eigenschaften eines „Albuminiumchlorids", welche bei der damaligen, wenig vollkommenen potentiometrischen Methodik noch schwankender erscheinen mußte, wurde seitens Robertsons mit einer gewissen Berechtigung eine jede Sicherheit abgesprochen. Ja, er zog aus den Versuchen jener Autoren den Schluß, daß eine Dissoziation von Cl-Ionen nicht stattfinde. Dagegen konnte in den Versuchen von Pauli mit H. Handovsky und C. Schorr, die den Verlauf der Reibungskurve und den Gang der Alkoholfällung beim Säureeiweiß feststellten, ein allerdings nur indirekter Beweis für die theoretisch überaus einleuchtenden Anschauungen von Bugarsky und Liebermann erbracht werden.

Als unmittelbar beweisend im Sinne einer Säurebindung an Eiweiß nach dem Typus von Ammoniumsalzen können jedoch erst die Untersuchungen von K. Manabe (Tokio) und J. Matula[1]) angesehen werden, die mit einer sorgfältigen Methodik und durch Variation der Säure bei konstantem Ei-

[1]) Diese Reihe XV; diese Zeitschr. 52, 369, 1913.

weißgehalt elektrometrisch die Ionisationsverhältnisse von Salzsäurealbumin und Glutin endgültig als die eines typischen Chlorids aufklärten, dessen Ionisationsverlauf eine quantitative Übereinstimmung mit dem Gange der Viscosität und der Alkoholfällbarkeit aufweist. Manabe und Matula haben ferner zuerst eine direkte Messung der hydrolytischen Dissoziation des Albuminchlorids versucht. Gleichzeitig ist an unserem Institute auf anderem Wege ein unmittelbarer Beweis für die Dissoziation des Salzsäurealbumins als normales Chlorid durch Pauli und M. Samec[1]) erbracht worden, die bei Säureüberschuß eine Abnahme der elektrophoretisch zur Kathode geschafften Eiweißmenge entsprechend der zurückgedrängten Ionisation des Proteinsalzes beobachten konnten.

Alle diese Arbeiten sollten durch Ausdehnung der Untersuchungen auf die Proteinsalze verschiedener Säuren, insbesondere hinsichtlich der Abhängigkeit der Bindung an das Eiweiß von der Natur der Säure und hinsichtlich der Verhältnisse der hydrolytischen Dissoziation weitergeführt werden.

I.

Sämtliche Messungen der vom Eiweiß gebundenen Säuremengen wurden mittels elektrometrischer Bestimmung der Wasserstoffionen-Konzentration vorgenommen. Als Material dienten unsere weitgehend dialysierten vom Euglobulin befreiten, durch mindestens 6 Monate abgelagerten Sera, ferner durch Halbsättigung mit Ammonsulfat vom Globulin befreites, dann vollständig mit Ammonsulfat ausgesalzenes, durch mindestens 6 Wochen dialysiertes Serumalbumin, salzfrei dialysiertes Glutin und nach Zd. Skraup hergestelltes Desaminoglutin. Von Säuren wurde Salz-, Schwefel-, Phosphor- und Essigsäure untersucht.

Die Berechnung der an das Eiweiß gebundenen Säure muß für starke und schwache Säuren verschieden sein. Für starke Säuren wurde sie, wie dies bei L. Blasel und J. Matula[2]) näher beschrieben ist, nach der Formel

$$n' = n - \frac{C_H}{\alpha}$$

durchgeführt.

[1]) Noch unveröffentlicht.

[2]) Diese Reihe XVI; diese Zeitschr. 58, 417, 1914.

Darin bedeutet n' die gebundene, n die Ausgangskonzentration, C_H die gemessene H-Ionenkonzentration und α den Dissoziationsgrad der Säure vom Gehalte n. Diese Formel wurde bei den starken Säuren in der Regel nicht oberhalb eines Gehaltes von 0,05 n verwendet, sie führt schon bei mittelstarken Säuren, wie Phosphorsäure, noch mehr bei schwachen Säuren zu falschen Werten.

Bei schwachen Säuren, deren Dissoziationskonstante gegeben ist, kann man auf folgendem Wege zur Kenntnis der vom Eiweiß gebundenen Säure gelangen. Die Voraussetzung ist nur, daß auch die schwache Säure mit dem Protein ein Salz liefert, das in positive Proteinionen und das Säureanion, z. B. bei Essigsäure das Acetation, gut dissoziiert. Die folgende Ableitung ist für das letztere Beispiel durchgeführt.

Durch Zusatz des gemeinsamen Acetations (bei uns vom Eiweißacetat stammend) geht die Dissoziationsisotherme der Essigsäure

$$K . C_{CH_3COOH} = C_H^2$$

über in die Gleichung

$$K . C_{CH_3COOH} = C_H (C_H + C_{CH_3COO}) \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (1)$$

In dieser Gleichung ist K die Dissoziationskonstante der Essigsäure bei der Versuchstemperatur, C_H die gemessene Konzentration der H-Ionen, C_{CH_3COO} die Konzentration der vom Eiweißacetat stammenden Acetationen, die wir bei der so weitgehenden Dissoziation der Eiweißsalze in den hier gegebenen Konzentrationen ohne großen Fehler der vom Eiweiß gebundenen Säure gleichsetzen können.

Ferner besteht für die neutralen Teile der Essigsäure C_{CH_3COOH} die folgende Beziehung, wenn n die Normalität der gesamten zur Reaktion verwendeten Essigsäure ist:

$$C_{CH_3COOH} = n - C_H - C_{CH_3COO} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (2)$$

Setzt man diesen Wert in Gleichung (1) ein, so ist:

$$K (n - C_H - C_{CH_3COO}) = C_H (C_H - C_{CH_3COO}).$$

Daraus berechnet sich die an das Eiweiß gebundene Säure

$$C_{CH_3COO} = \frac{K (n - C_H) - C_H^2}{K + C_H} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad (3)$$

Auf diese Weise ist die Bindung jeder schwachen Säure von bekannter Dissoziationskonstante an Protein, welche gut dissoziierende Eiweißsalze zu bilden vermag, mit genügender Annäherung zu ermitteln.

Leider ist es vorläufig in Eiweißlösungen nicht gelungen, zu einer befriedigenden elektrometrischen Messung anderer Säureionen als der Halogenionen zu gelangen. Wir teilen hier nur einiges über die Messung der Sulfationen mit, was gelegentlich für spätere Untersucher von Interesse sein könnte. Nach Analogie mit der Sörensenschen Gleichung für den Wasserstoffionenexponenten ergibt sich für den Sulfationenexponenten

$$p_{SO_4} = \frac{\pi_p - \pi_0}{K},$$

wo π_p die elektromotorische Kraft für die gesuchte Sulfationenkonzentration vorstellt. Die Bestimmung eines π_0-Wertes ist uns mittels verdünnter Schwefelsäure, die nach Enklaar[1]) bis 0,1 n vollständig nach der Gleichung $H_2SO_4 \longrightarrow H^{\cdot} + H^{\cdot} + SO_4''$ ionisiert, bis zu einem gewissen Grade geglückt. Als Elektrode diente eine Quecksilber-Mercurosulfatkombination, da trotz peinlichster Bemühungen unedle Metalle, wie Blei-Bleisulfat, versagten. Unsere Elektrode ist infolge des hohen Löslichkeitsproduktes nur für Konzentrationen oberhalb 0,01 n-SO_4 verwendbar. In der folgenden Tabelle zeigen die π_0-Werte einen geringen, aber deutlichen Gang mit steigendem Säuregehalt.

Tabelle I.

Säurekonzentration	c_{SO_4}	p_{SO_4}	π	π_0
0,01 n	0,00800	2,0969	0,40994	0,35480
0,02 n	0,01485	1,8280	0,40556	0,35702
0,025 n	0,01812	1,7320	0,40481	0,35867
0,05 n	0,03286	1,4830	0,40188	0,36278

Für Sulfationen ist gemäß ihrer doppelten Wertigkeit die mittlere Richtungskonstante der p_{SO_4}-π-Kurve halb so groß als für Cl- oder H-Ionen, daher entsprechen im ersten Falle bei der schwachen Neigung der P_{SO_4}-Linie geringen Verschiebungen in der elektromotorischen Kraft große Abweichungen in der SO_4-Ionenkonzentration. Überdies haben sich zum Unterschiede von Messungen reiner Schwefelsäure am Eiweißsulfat trotz bester Konstanz und Schärfe der Einstellung Schwankungen in der Reproduzierbarkeit der Werte gezeigt, die für eine störende Nebenreaktion sprechen. So könnten anwesende Chlorionen selbst in hoher Verdünnung (10^{-6} n!) merklich werden, da dann das viel kleinere Löslichkeitsprodukt $[Hg^{\cdot}].[Cl]$ maßgebend wird.

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 80, 617, 1912.

Ein Teil unserer Versuchsdaten ist in den folgenden Tabellen und Figuren verzeichnet.

A. Pferdeserumalbumin (PA) Endkonzentration 1,26%.

Tabelle II.

PA + Salzsäure.

Säurekonzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,002 n	0,97920	0,55942	4,7524	$1{,}77 \cdot 10^{-5}$	$1{,}9819 \cdot 10^{-3}$
0,003 n	0,97656	0,52590	4,1755	$6{,}68 \cdot 10^{-5}$	$2{,}9317 \cdot 10^{-3}$
0,005 n	0,97136	0,49642	3,6681	$2{,}15 \cdot 10^{-4}$	$4{,}7790 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,95574	0,42792	2,4892	$3{,}24 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6610 \cdot 10^{-2}$
0,025 n	0,95183	0,41370	2,2444	$5{,}70 \cdot 10^{-3}$	$1{,}9020 \cdot 10^{-2}$
0,04 n	0,94272	0,38458	1,7432	$1{,}81 \cdot 10^{-2}$	$2{,}0800 \cdot 10^{-2}$

Tabelle III.

PA + Schwefelsäure.

Säurekonzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,001 n	0,93112	0,57320	4,9897	$1{,}02 \cdot 10^{-5}$	$9{,}890 \cdot 10^{-4}$
0,005 n	0,85120	0,52120	3,7513	$1{,}77 \cdot 10^{-4}$	$4{,}792 \cdot 10^{-3}$
0,007 n	0,82540	0,48930	3,5456	$2{,}85 \cdot 10^{-4}$	$6{,}655 \cdot 10^{-3}$
0,01 n	0,79440	0,46226	3,0802	$8{,}31 \cdot 10^{-4}$	$8{,}950 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,73770	0,42670	2,4681	$3{,}40 \cdot 10^{-3}$	$1{,}539 \cdot 10^{-2}$
0,025 n	0,71960	0,41542	2,2740	$5{,}32 \cdot 10^{-3}$	$1{,}761 \cdot 10^{-2}$
0,04 n	0,67710	0,38970	1,8313	$1{,}48 \cdot 10^{-2}$	$1{,}820 \cdot 10^{-2}$
0,05 n	0,65256	0,38150	1,6902	$2{,}04 \cdot 10^{-2}$	$1{,}870 \cdot 10^{-2}$

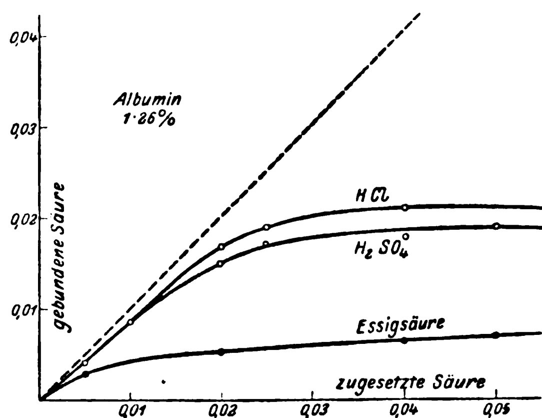


Fig. 1.

Tabelle IV.

PA + Essigsäure.

Säure-konzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,005 n	0,05687	0,56693	4,8818	$1,31 \cdot 10^{-5}$	$3,00 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,02957	0,53336	4,3040	$4,97 \cdot 10^{-5}$	$5,24 \cdot 10^{-3}$
0,04 n	0,02110	0,51518	3,9910	$1,02 \cdot 10^{-4}$	$6,00 \cdot 10^{-3}$
0,05 n	0,01843	0,51063	3,9127	$1,22 \cdot 10^{-4}$	$6,47 \cdot 10^{-3}$
0,1 n	0,01308	0,49504	3,6443	$2,27 \cdot 10^{-4}$	$7,11 \cdot 10^{-3}$
0,2 n	0,009003	0,48130	3,4080	$3,91 \cdot 10^{-4}$	$8,60 \cdot 10^{-3}$
0,4 n	0,006625	0,46704	3,1624	$6,88 \cdot 10^{-4}$	$9,47 \cdot 10^{-3}$

B. Dialysiertes Pferdeserum (PS) euglobulinfrei 1%.

Tabelle V.

PS + Salzsäure.

Säure-konzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,002 n	0,97920	0,55360	4,6523	$2,23 \cdot 10^{-5}$	$1,9773 \cdot 10^{-3}$
0,003 n	0,97656	0,52522	4,1640	$6,85 \cdot 10^{-5}$	$2,9298 \cdot 10^{-3}$
0,005 n	0,97136	0,49260	3,6024	$2,49 \cdot 10^{-4}$	$4,743 \cdot 10^{-3}$
0,01 n	0,96354	0,47271	3,2599	$5,50 \cdot 10^{-4}$	$9,429 \cdot 10^{-3}$
0,025 n	0,95183	0,40154	2,0351	$9,22 \cdot 10^{-3}$	$1,531 \cdot 10^{-2}$
0,05 n	0,93750	0,37070	1,5043	$3,13 \cdot 10^{-2}$	$1,66 \cdot 10^{-2}$

Tabelle VI.

PS + Schwefelsäure.

Säure-konzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,001 n	0,93112	0,57285	4,9837	$1,04 \cdot 10^{-4}$	$9,888 \cdot 10^{-4}$
0,005 n	0,8512	0,50068	3,7415	$1,86 \cdot 10^{-4}$	$4,814 \cdot 10^{-3}$
0,007 n	0,8254	0,48918	3,5428	$2,87 \cdot 10^{-4}$	$6,653 \cdot 10^{-3}$
0,01 n	0,7944	0,45849	3,0154	$9,65 \cdot 10^{-4}$	$8,78 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,7377	0,41580	2,2806	$5,24 \cdot 10^{-3}$	$1,29 \cdot 10^{-2}$
0,025 n	0,7196	0,40527	2,0993	$7,96 \cdot 10^{-3}$	$1,39 \cdot 10^{-2}$
0,04 n	0,6771	0,38685	1,7823	$1,65 \cdot 10^{-2}$	$1,56 \cdot 10^{-2}$

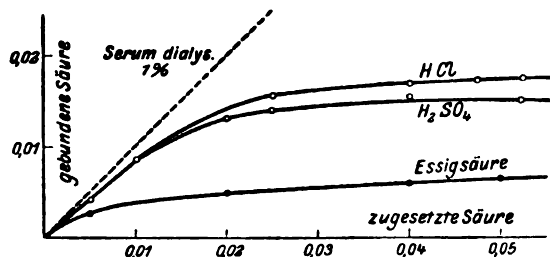


Fig. 2.

Tabelle VII.

PS + Essigsäure.

Säure-konzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,005 n	0,05687	0,56383	4,8283	$1{,}49 \cdot 10^{-5}$	$2{,}73 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,02957	0,53038	4,2526	$5{,}59 \cdot 10^{-5}$	$4{,}81 \cdot 10^{-3}$
0,025 n	0,02667	0,52313	4,1280	$7{,}45 \cdot 10^{-5}$	$4{,}76 \cdot 10^{-3}$
0,04 n	0,02110	0,51529	3,9929	$1{,}02 \cdot 10^{-4}$	$6{,}02 \cdot 10^{-3}$
0,05 n	0,01843	0,50857	3,9665	$1{,}08 \cdot 10^{-4}$	$7{,}05 \cdot 10^{-3}$
0,1 n	0,01308	0,49566	3,6550	$2{,}21 \cdot 10^{-4}$	$7{,}34 \cdot 10^{-3}$
0,2 n	0,009003	0,48089	3,4009	$3{,}92 \cdot 10^{-4}$	$8{,}02 \cdot 10^{-3}$
0,4 n	0,006625	0,46684	3,1590	$6{,}92 \cdot 10^{-4}$	$9{,}62 \cdot 10^{-3}$
0,5 n	0,005715	0,45931	3,0194	$9{,}56 \cdot 10^{-4}$	$8{,}24 \cdot 10^{-3}$

C. Glutin 1⁰/₀.

Tabelle VIII.

Glutin + Schwefelsäure.

Säure-konzentration	α	π (Volt)	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,005 n	0,8512	0,51452	3,9797	$1{,}05 \cdot 10^{-4}$	$4{,}877 \cdot 10^{-3}$
0,01 n	0,7944	0,45930	3,0292	$9{,}35 \cdot 10^{-4}$	$8{,}820 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,7377	0,41015	2,1833	$6{,}56 \cdot 10^{-3}$	$1{,}111 \cdot 10^{-2}$
0,025 n	0,7496	0,40028	2,0134	$9{,}69 \cdot 10^{-3}$	$1{,}150 \cdot 10^{-2}$
0,05 n	0,65256	0,37868	1,6417	$2{,}28 \cdot 10^{-2}$	$1{,}500 \cdot 10^{-2}$

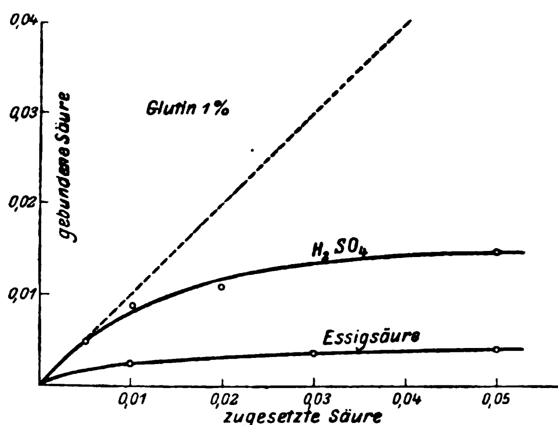


Fig. 3.

Tabelle IX.

Glutin + Essigsäure.

Säure-konzentration	π	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,01 n	0,53220	4,2839	$0{,}521 \cdot 10^{-4}$	$2{,}52 \cdot 10^{-3}$
0,03 n	0,51015	3,9045	$1{,}246 \cdot 10^{-4}$	$3{,}66 \cdot 10^{-3}$
0,05 n	0,50082	3,7436	$1{,}804 \cdot 10^{-4}$	$4{,}35 \cdot 10^{-3}$
0,10 n	0,48661	3,4993	$3{,}167 \cdot 10^{-4}$	$5{,}06 \cdot 10^{-3}$

D. Desaminoglutin 0,75 %.

Tabelle X.

Desaminoglutin + Salzsäure.

Säure-konzentration	π	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,005 n	0,46042	3,0491	$8{,}93 \cdot 10^{-4}$	$4{,}087 \cdot 10^{-3}$
0,01 n	0,42640	2,4630	$3{,}44 \cdot 10^{-3}$	$6{,}440 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,39620	1,9432	$1{,}14 \cdot 10^{-2}$	$8{,}110 \cdot 10^{-3}$
0,05 n	0,36534	1,4088	$3{,}90 \cdot 10^{-2}$	$8{,}500 \cdot 10^{-3}$

Tabelle XI.

Desaminoglutin + Schwefelsäure.

Säure-konzentration	π	P_H	C_H	Gebundene Säure
0,005 n	0,45394	2,937	$1{,}16 \cdot 10^{-3}$	$3{,}64 \cdot 10^{-3}$
0,01 n	0,42038	2,359	$4{,}37 \cdot 10^{-3}$	$4{,}5 \cdot 10^{-3}$
0,02 n	0,40095	2,025	$9{,}44 \cdot 10^{-3}$	$7{,}2 \cdot 10^{-3}$
0,05 n	0,37514	1,5807	$2{,}63 \cdot 10^{-2}$	$9{,}8 \cdot 10^{-3}$

Aus sämtlichen Versuchen geht hervor, daß in den gleichen Konzentrationen einer schwächeren Säure weniger an das Eiweiß gebunden wird, als in einer stärkeren. Die Bindung von Schwefelsäure bleibt nur um ein geringes hinter der von Salzsäure zurück, während der aus Essigsäure weggebundene Anteil ungefähr ein Drittel davon beträgt. Ferner zeigte sich für die verschiedenen Säuren, daß Glutin etwas weniger Säure zu binden vermag als die gleiche Menge Albumin. Die weiteren Einzelheiten finden sich in dem folgenden Abschnitte.

Wie die Untersuchung der Viscosität (Pauli und H. Handovsky), sowie der optischen Drehung von Proteinsalzen verschiedener Säuren (Pauli und M. Samec[1]) gelehrt hat, bestehen

[1]) Diese Reihe XVII, diese Zeitschr. 59, 470, 1914.

hier große, noch nicht befriedigend aufgeklärte Unterschiede, die sich nicht mit dem Stärkegrad der betreffenden Säuren in Zusammenhang bringen lassen. So liegt die Zähigkeit und optische Drehung des Albumins mit Schwefelsäure tief unter der des Albuminchlorids und wird darin von weit schwächeren Säuren, wie Oxal- und Monochloressigsäure, übertroffen. Innere Reibung und Drehungsvermögen des Eiweißsulfats stehen der des Acetats am nächsten. Aus unseren elektrometrischen Messungen geht hervor, daß dieses eigenartige Verhalten des Proteinsulfats keineswegs in einer verringerten Bindung von Schwefelsäure durch das Albumin begründet sein kann.

II.

Die größte Wichtigkeit für die Frage der Proteinsalzbildung kommt wohl der von namhaften Autoren in ihrer Existenz überhaupt bestrittenen hydrolytischen Dissoziation und ihres eventuellen Ausmaßes zu.

Zu diesem Zwecke war zunächst zu untersuchen, ob die Annahme, daß das relative Zurückbleiben der Bindung von Säure an das Eiweiß unter der zugesetzten Säuremenge mit einem teilweisen hydrolytischen Zerfall des Proteinsalzes zusammenhänge, zu Widersprüchen bezüglich der Größenordnung der mittleren Basendissoziationskonstante K_b des Eiweißes führe.

Unser Serumalbumin von 1,26 % vermag maximal $2{,}1 \cdot 10^{-2}$ n-Salzsäure zu binden (Fig. 4). Dieser Grenzfall tritt jedoch erst bei einem beträchtlichen Säureüberschuß ein, setzt man genau $2{,}1 \cdot 10^{-2}$ n-Salzsäure zum Eiweiß, so wird (Fig 5) anstatt *AC* nur *AB* an das Eiweiß gebunden und der Hydrolysegrad wäre *BC*/*AC*. In ähnlicher Weise kann man alle Werte des Hydrolysegrades bei steigendem Säurezusatz innerhalb *OA* graphisch ablesen. Die zugehörigen Mengen freigesetzter Säure sind im Flächenstück *OBC* enthalten. Ferner ergibt sich unmittelbar aus dem Verlaufe der begrenzenden Kurve *OB*, daß der Hydrolysegrad bis zur Bindung von *AB* beständig ansteigt. Darüber hinaus wächst der Säureüberschuß rasch an und die Hydrolyse wird zurückgedrängt, wie aus der Form der Fläche *BCD* unmittelbar zu ersehen ist. Im Punkte *D* wäre die Hydrolyse des Proteinsalzes praktisch gleich Null.

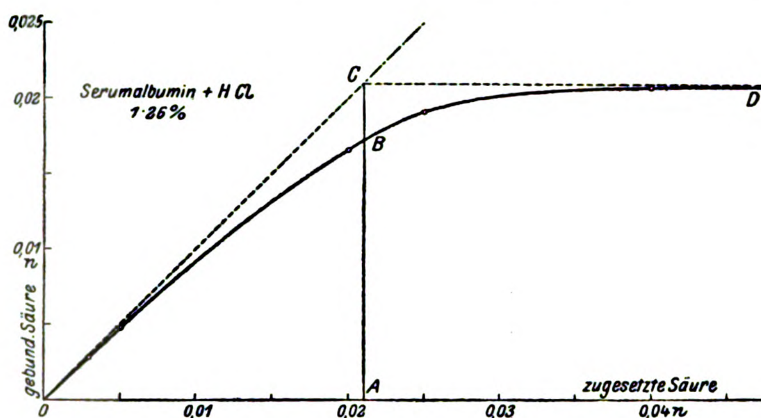


Fig. 4.

Das gleiche ergibt sich auch aus der folgenden tabellarischen Zusammenstellung der Hydrolysegrade für unser 1,26 % Serumalbumin bei wachsender Säurezugabe.

Tabelle XII.

1,26 % Albumin.

n-HCl-Konzentration	Hydrolyse %	K_b ($v = 1000$)
0,005	5,0	$2,36 \cdot 10^{-8}$
0,01	7,5	$1,024 \cdot 10^{-9}$
0,021	18,0	$1,57 \cdot 10^{-10}$
0,025	8,57	—
0,03	4,76	—
0,04	1,1	—

Bei dieser Gelegenheit sei bemerkt, daß die maximale Säurebindung dem Albumingehalt proportional erscheint, wie dies auch für die Alkaliaufnahme durch Casein von T. B. Robertson[1]) wahrscheinlich gemacht wurde. Aus unserem Bindungsmaximum $2,1 \cdot 10^{-2}$ n-HCl und 1,26 % Albumin berechnet sich für 1 % Eiweißgehalt eine Höchstaufnahme von $1,66 \cdot 10^{-2}$ n-HCl, aus einem Versuche von K. Manabe und J. Matula an 1,09 % Serumalbumin, das $1,8 \cdot 10^{-2}$ n maximal aufnimmt, ergibt die Reduktion auf 1 % Eiweißgehalt $1,65 \cdot 10^{-2}$ n-HCl. Experimentell gefunden wurde von uns für reinstes dialysiertes Serum-

[1]) l. c. S. 172.

eiweiß von 1 % der Wert $1{,}66 \cdot 10^{-2}$ n (Tabelle V). Dieses 1 %ige Serumeiweiß ergab in der Säurekonzentration $1{,}66 \cdot 10^{-2}$ n-HCl eine Hydrolyse von 18,7 % (vgl. Fig. 5).

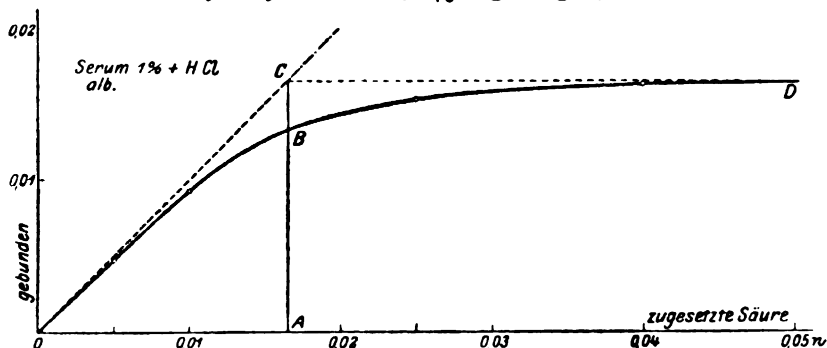


Fig. 5.

Ähnlich läßt sich der Hydrolysegrad des Glutinchlorids aus der Fig. 6 durch graphische Interpolation ermitteln. Beim Gehalte von $1{,}5 \cdot 10^{-2}$ n-HCl, dem Maximum, das von 1 % Glutin aufgenommen wird, beträgt die Hydrolyse 25 %.

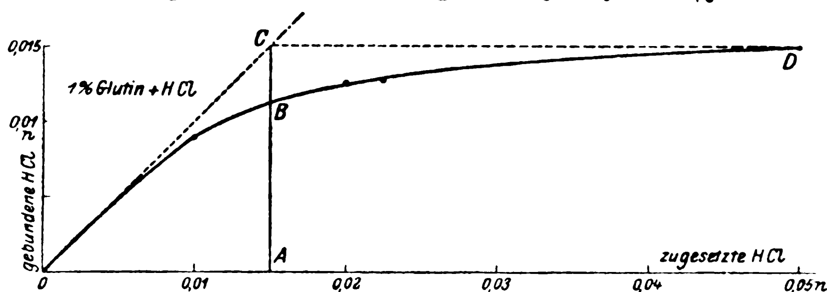


Fig. 6.

Man kann nun in der folgenden Weise ausgehend vom Hydrolysegrad — dem Bruchteil der Gesamtkonzentration des Salzes, welcher zerfallen ist — zur Schätzung des mittleren[1])

[1]) Diese Bezeichnung hängt mit der Auffassung von Eiweiß als vielwertige Base zusammen und hat, solange die Wertigkeit des Eiweißes nicht sicher bekannt ist, lediglich einen vorläufigen, orientierenden Charakter. Wir möchten als mittleres K_b des Eiweißes in seiner Verbindung mit einer starken Säure diejenige Basendissoziationskonstante definieren, die eine einwertige Base haben müßte, um unter sonst gleichen Umständen dieselbe hydrolytische Dissoziation zu zeigen, wie ein mit

K_b des Eiweißes im Proteinchlorid gelangen. Bekanntlich geht die Gleichung der Hydrolysenkonstante

$$K = \frac{K_{Salz} \cdot K_{W(asser)}}{K_{S(äure)} \cdot K_{B(ase)}}$$

für den Fall des Salzes einer schwachen Base mit einer starken Säure, da dann Salz und Säure nahezu die gleiche Dissoziationskonstante haben, über in die Form

$$K = \frac{K_W}{K_b}.$$

Ist x der Hydrolysegrad, dann ist $1 - x$ der nicht hydrolysierte Anteil des Salzes und die betreffenden Konzentrationen im Volumen v sind $\frac{x}{v}$ und $\frac{1-x}{v}$. Demgemäß wird die Reaktionsgleichung der Hydrolyse

$$K \cdot \frac{1-x}{v} = \frac{x}{v} \cdot \frac{x}{v} \quad \text{oder} \quad K = \frac{K_W}{K_b} = \frac{x^2}{(1-x) \cdot v},$$

daraus

$$K_b = \frac{K_W (1-x) \cdot v}{x^2} \quad \ldots\ldots \quad (1)$$

Für 18^0 beträgt $K_W = 0{,}62 \cdot 10^{-14}$ und lassen wir das Molekulargewicht des Albumins zwischen 1000 und 10 000 variieren, wobei für eine $1\,^0/_0$ige Lösung $v = 100$ bzw. 1000 wird, so berechnet sich aus einem Hydrolysegrad 0,18 mittels der obigen Formel für die mittlere Basendissoziationskonstante des Eiweiß K_b der Wert $1{,}57 \cdot 10^{-11}$ bis $1{,}57 \cdot 10^{-10}$. Von diesen dürfte der zweite der Wirklichkeit näher kommen, da das Molekulargewicht des Albumins näher bei 10 000 als 1000 anzunehmen ist.

Der so ermittelte K_b-Wert des Albumins entspricht in seiner Größenordnung auffallend der bei höheren Polypeptiden zu erwartenden mittleren Basendissoziationskonstante.

---

sämtlichen verfügbaren basischen Valenzen reagierendes Protein. Man könnte sie schärfer „reduzierte Dissoziationskonstante der gesättigten Eiweißbase" benennen. Sie ist nicht identisch mit der „mittleren" Basendissoziationskonstante des freien Proteins, deren Wert der ersten Basendissoziationskonstante des Proteins sehr nahekommt. Alle diese Verhältnisse werden noch einer eingehenden theoretischen Erörterung unterzogen werden, die wir einer nächsten Mitteilung vorbehalten.

K. Winkelblech[1]) fand bei den einfachsten Monoaminosäuren für K_b-Werte zwischen 2,3 und $5{,}1 \cdot 10^{-12}$, H. Euler[2]) bei den einfachsten Dipeptiden das K_b zwischen 2 und $3 \cdot 10^{-11}$ schwankend. A. Kanitz[3]) ermittelte die erste Basendissoziationskonstante beim Histidin mit $5{,}7 \cdot 10^{-9}$, bei Arginin und Lysin schätzte er sie größer als $1 \cdot 10^{-7}$. Schon die Verkettung von zwei einfachsten Monoaminosäuren steigert die Basendissoziationskonstante um eine Zehnerpotenz, und eine weitere Vergrößerung derselben darf deshalb bei höheren oder gar zum Teile aus Diaminosäuren aufgebauten Polypeptiden als sicher angenommen werden.

Wir sehen zugleich, daß die Annahme einer normalen Hydrolyse des gesättigten Proteinchlorids uns unmittelbar zu einer durchaus wahrscheinlichen Größenordnung der mittleren Basenstärke seines Albumins führt, wodurch jene Annahme in hohem Maße gestützt wird.

Es ist zurzeit nicht zu entscheiden, ob die verglichen mit dem Albumin stärkere Hydrolyse des Glutinchlorids auf einem höheren Molekulargewichte desselben oder auf einem kleineren Werte des mittleren K_b beruht.

Geht man mit dem Zusatze der Säure unter die Konzentration der maximalen Bindung (von A gegen O) zurück, so zeigt sich eine stetige Abnahme des Hydrolysegrades, also zunehmende Festigkeit der Säurebindung, und die berechneten zugehörigen Werte der mittleren Basendissoziationskonstanten erfahren einen beträchtlichen Anstieg. Ist nur ein Viertel der Säurekapazität des Albumins zur Verfügung, so erreicht die Größenordnung des errechneten K_b einen Wert, wie er etwa den Diaminosäuren zukommt (Tabelle XII).

Auf Grund unserer Erfahrungen über Reibung, osmotischen Druck und Ionenbeweglichkeit bei den Eiweißsalzen stehen wir entgegen Robertson auf dem Standpunkte, daß das Eiweiß sich als vielsäurige Base verhält, deren Salze mehrwertige[4]) Ei-

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 36, 546, 1901; vgl. auch H. Lunden, Affinitätsmessungen usw. Stuttgart 1908.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 219, 1907.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 476, 1906.

[4]) Die Anschauung von L. Michaelis (Handb. d. Biochemie, Ergzbd.), daß eine solche Annahme ein Novum vorstelle, beruht anscheinend auf einem Mißverständnis bezüglich der Dissoziation einer vielwertigen Base

weißionen bilden. Da eine solche Base gegen Säure zunächst mit den stärksten basischen Valenzen und nach deren Sättigung mit immer schwächeren reagiert, so erscheint das Wachsen der Hydrolyse mit steigendem Säurezusatz bis zu einem Maximum als notwendige Folge der Reaktion von Eiweiß als vielsäurige Base.

Ein wichtiges Beweisstück in der Frage der hydrolytischen Dissoziation der Eiweißsalze bildet ihr Verhalten bei der Verdünnung. In dieser Richtung liegen nur wenige Versuche vor. Sieht man von einzelnen einander widersprechenden qualitativen Beobachtungen am Alkalicasein ab [für Laqueur und Sackur[1]), gegen T. B. Robertson], so bleiben nur einige Versuche an unserem Institute von K. Manabe (Tokio) und J. Matula, die ein Freiwerden von H-Ionen bei der Verdünnung von Albuminchlorid fanden. Dagegen konnten L. Blasel und J. Matula beim Desaminoglutin keinerlei durch Hydrolyse bedingte Änderung der H-Ionenkonzentration abhängig von der Verdünnung auffinden (s. u.). Direkte Größenbestimmungen des Hydrolysegrades sind dabei nicht vorgenommen worden.

Wir gingen in der Weise vor, daß analog wie für (1 %iges) Albumin- und Glutinchlorid auch für deren Verdünnungen auf die Hälfte und ein Viertel elektrometrisch die Kurven der Säurebindung bestimmt wurden. Aus diesen Kurven, von denen Fig. 8 und 9 Beispiele darstellen, konnten dann die Hydrolysegrade in den passenden Säureproteinkonzentrationen ermittelt werden. In den folgenden Tabellen sind die Werte enthalten, die zur Herstellung der Kurven dienten. Ferner ist in Fig. 7 zur Ergänzung die Abhängigkeit der Säurebindung von der Glutinkonzentration graphisch dargestellt.

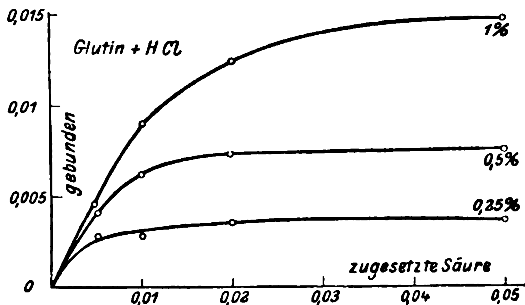


Fig. 7.

oder Säure und ihrer Salze. Unseres Erachtens wird gegenwärtig zumeist die Zahl der Ladungen, die ein hochmolekularer Komplex führen kann, ganz enorm unterschätzt.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 193, 1903.

Tabelle XIII.

Versuchslösung	$\varkappa$	C_H	Gebundene Säure
0,02 n-HCl + 1 % Glutin . .	0,40877	0,006927	0,01277
Verdünnt 1:1	0,42486	0,003661	0,00621
Verdünnt 1:3	0,43970	0,002032	0,002918
0,01 n-HCl + 1 % Glutin . .	0,46106	0,000872	0,009097
Verdünnt 1:1	0,46691	0,0006915	0,0042916
Verdünnt 1:3	0,47610	0,0004804	0,002010
0,005 n-HCl + 1 % Glutin . .	0,50425	0,0001574	0,004839
Verdünnt 1:1	0,50678	0,0001424	0,0023548
Verdünnt 1:3	0,50762	0,0001377	0,001110
0,02 n-HCl + 0,5 % Glutin . .	0,39465	0,012120	0,007350
0,02 n-HCl + 0,25 % Glutin .	0,38786	0,015860	0,003445
0,01 n-HCl + 0,25 % Glutin .	0,40809	0,007115	0,002635

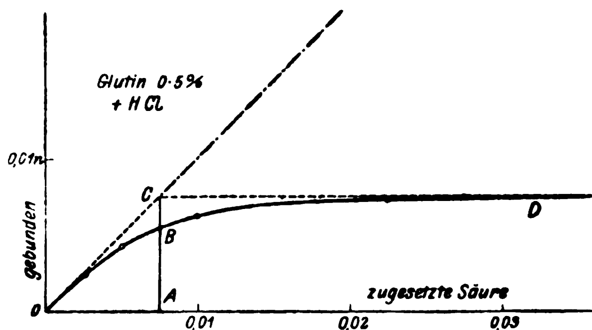


Fig. 8.

Tabelle XIV.

Versuchslösung	$\varkappa$	C_H	Gebundene Säure
1,26 % Albumin + 0,005 n-HCl	0,49097	0,0002665	0,004727
Verdünnung 1:1	0,49265	0,0002493	0,002246
Verdünnung 1:3	0,49622	0,0002164	0,001030
1,26 % Albumin + 0,02 n-HCl	0,41350	0,005743	0,014010
Verdünnung 1:1	0,42649	0,0034316	0,006448
Verdünnung 1:3	0,44214	0,001849	0,003109

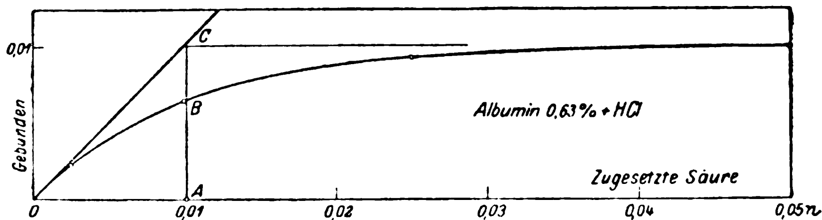


Fig. 9.

Aus den Kurven und Daten der verdünnten Säureproteine wurden die in der nächsten Tabelle wiedergegebenen Hydrolysegrade abgeleitet.

Tabelle XV.

	Verdünnung	Gehalt an Protein %	Gehalt an Säure	Hydrolyse %	Hydrolyse aus $\sqrt{v}$ ber. %
Albumin	—	1,26	0,022 n	18,7	—
	1:1	0,63	0,011 n	30,4	—
	1:3	0,315	0,00505 n	38,4	37,4
Glutin	—	1,0	0,015 n	25,0	—
	1:1	0,5	0,0075 n	29,0	—
	1:3	0,25	0,00375 n	40,0	50,0

Unsere Beobachtungen lehren, daß bei den untersuchten Proteinchloriden die hydrolytische Dissoziation mit der Verdünnung wächst.

Bekanntlich ist das Ausmaß der Hydrolyseänderung mit der Verdünnung vom Hydrolysegrad abhängig. Im Falle einer schwachen Base und starken Säure (oder umgekehrt) lehrt die Diskussion der Gleichung

$$\frac{K_w}{K_b} = \frac{x^2}{(1-x)v},$$

daß bei kleinem Hydrolysegrad (x) seine Änderung nahezu der Quadratwurzel aus der Verdünnung proportional wird. Ist x groß, so wird es schließlich von der Verdünnung fast unabhängig.

In der Tat sehen wir (Tabelle XV), daß beim Albuminchlorid der Hydrolysegrad noch mit einiger Annäherung dem Wurzelgesetze folgt und sich bei Vervierfachung des Volumens verdoppelt. Dagegen bleibt er, wie zu erwarten, bei dem stärker hydrolytisch dissoziierten Glutinchlorid bereits merklich hinter dem aus $\sqrt{v}$ berechneten Werte zurück.

Auch die Untersuchungen an den Proteinsalzen mit Essigsäure zeigen gute Übereinstimmung mit allen bisherigen Folgerungen, betreffend die hydrolytische Dissoziation. Betrachtet man das Zurückbleiben der Essigsäurebindung an das Eiweiß als eine Folge der stärkeren hydrolytischen Dissoziation des Eiweißsalzes mit der schwachen Essigsäure, und setzt man die

(theoretische) maximale Bindungsfähigkeit für alle Säuren[1]), die selbst ein größeres K_a besitzen als Eiweiß, gleich derjenigen der Salzsäure, so läßt sich der Hydrolysegrad des Proteinacetats aus der Kurve der Essigsäurebindung an das Eiweiß ähnlich wie oben ermitteln. Wir fanden so für das Acetat von 1%igem Serumeiweiß einen Hydrolysegrad von 72% und für das des 1%igen Glutins von 80%. Eine näherungsweise Berechnung nach der Gleichung der Hydrolysenkonstante führt zu Werten derselben Größenordnung.

Mit der ermittelten Größe ihrer hydrolytischen Dissoziation steht auch das Verhalten der Proteinacetate bei der Verdünnung in bestem Einklang. Die direkten Messungen der H-Ionenkonzentration stark verdünnter Eiweißacetatlösungen mit niederem Säuregehalt (unter 0,005 n) bieten selbst mit unseren, für Lösungen hohen inneren Widerstandes besonders geeigneten Einrichtungen beträchtliche Schwierigkeiten. Man kann hier mit Umgehung derselben eine Orientierung über die Änderung der hydrolytischen Dissoziation bei der Verdünnung erlangen, indem man prüft, wie weit das Eiweißacetat als Reaktionsregulator im Essigsäuregemisch wirksam ist.

Bekanntlich findet unter den Reaktionsregulatoren (Pufferlösungen), die zur leicht reproduzierbaren Bereitung fein abgestufter, stabiler Wasserstoffionenkonzentrationen dienen, das Essigsäure-Acetatgemisch eine sehr ausgebreitete Verwendung. In der dafür geltenden Reaktionsgleichung

$$C_H = K \frac{C_{CH_3COOH}}{C_{CH_3COO}} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad (1)$$

ist K die Dissoziationskonstante der Essigsäure, während im Zähler die Konzentration der neutralen Essigsäuremoleküle, im Nenner die der Acetationen steht. Da die Essigsäure in diesen Kombinationen wenig ionisiert, so kann die Konzentration der Neutralteile gleich der der Säure angenommen werden. Ebenso pflegt man die Konzentration der Acetationen, die so gut wie

---

[1]) Ob die maximale Bindung für eine dieser Säuren auch praktisch erreichbar ist, wird lediglich davon abhängen, wieweit in der Eiweißlösung ein genügender Säureüberschuß zur Zurückdrängung der Hydrolyse herstellbar und ob dies ohne sekundäre Veränderungen des Proteinsalzes möglich ist.

ausschließlich vom Acetat stammen, sobald dasselbe unter 0,1 n verwendet wird, mit der des zugesetzten Salzes zu identifizieren. Dann müßte die H-Ionenkonzentration eines solchen Puffers, nachdem sich das Verhältnis Essigsäure zu Acetat mit der Verdünnung nicht ändert, von dieser unabhängig sein. In Wirklichkeit ist die relative Zunahme der Acetationen mit der Verdünnung genügend, um infolge des wachsenden Nenners eine Abnahme des C_H mit Zunahme von v erkennen zu lassen. Das zeigt die folgende Tabelle, der das Natriumacetat zugrunde gelegt ist.

Tabelle XVI.

Verhältnis von Essigsäure zu Acetat 1 : 1.

Konzentration der Lösungen	Dissoziationsgrad des Salzes	C_H
0,1 n	0,86	$2{,}07 \cdot 10^{-5}$
0,01 n	0,93	$1{,}93 \cdot 10^{-5}$
0,001 n	0,97	$1{,}84 \cdot 10^{-5}$

Denken wir uns das Natriumacetat durch ein anderes, hydrolytisch mit der Verdünnung stark zerfallendes Acetat ersetzt, dann müßte infolge der Hydrolyse bei der Verdünnung der Acetationengehalt relativ stärker abnehmen, die Essigsäure relativ mehr zunehmen, und das Ergebnis wäre nicht mehr geringe Abnahme oder Konstanz der freien Wasserstoffionen, wie im typischen Puffergemisch, sondern Ansteigen der H-Ionenkonzentration mit der Verdünnung.

Es hat sich jedoch ergeben, daß sich das Eiweißacetat-Essigsäuregemisch bei Verdünnung im Sinne eines Puffers mit relativer Zunahme der Acetationen und mit jedenfalls geringer Änderung der Hydrolyse verhält. Die H-Ionenkonzentration (C_H) sinkt mit wachsendem Lösungsvolumen wie bei Natriumacetat-Essigsäure. Die folgende Tabelle zeigt dies unmittelbar.

Wie oben auseinandergesetzt, wird mit steigendem Hydrolysegrad der Einfluß der Verdünnung immer geringer, und so darf in der Tatsache, daß bei den untersuchten mäßigen Verdünnungen keine erhebliche Hydrolyseänderung der Proteinacetate bemerkbar bzw. eine vorhandene durch die Steigerung

der Acetatdissoziation überkompensiert wird, auch eine Folgeerscheinung ihres großen Hydrolysegrades erblickt werden[1]).

Tabelle XVII.

Stammlösung	Verdünnung	π	C_H	Gebundene Säure
1,26 % Albumin + 0,2 n-Essigsäure	—	0,48653	$3{,}18 \cdot 10^{-4}$	—
	1:1	0,49497	$2{,}30 \cdot 10^{-4}$	$6{,}97 \cdot 10^{-3}$
	1:3	0,50424	$1{,}58 \cdot 10^{-4}$	$4{,}96 \cdot 10^{-3}$
1,26 % Albumin + 0,02 n-Essigsäure	—	0,53360	$4{,}97 \cdot 10^{-5}$	—
	1:1	0,53760	$3{,}91 \cdot 10^{-5}$	$3{,}120 \cdot 10^{-3}$
	1:3	0,55243	$2{,}17 \cdot 10^{-5}$	$2{,}206 \cdot 10^{-3}$
1 % Glutin + 0,2 n-Essigsäure	—	0,47693	$4{,}65 \cdot 10^{-4}$	$8{,}00 \cdot 10^{-3}$
	1:1	0,48008	$4{,}10 \cdot 10^{-4}$	$3{,}79 \cdot 10^{-3}$
	1:3	0,48760	$3{,}05 \cdot 10^{-4}$	$2{,}48 \cdot 10^{-3}$
1 % Glutin + 0,1 n-Essigsäure	—	0,48900	$2{,}88 \cdot 10^{-4}$	$5{,}59 \cdot 10^{-3}$
	1:1	0,49260	$2{,}50 \cdot 10^{-4}$	$3{,}11 \cdot 10^{-3}$
	1:3	0,50244	$1{,}70 \cdot 10^{-4}$	$2{,}24 \cdot 10^{-3}$

Aus den Erscheinungen der hydrolytischen Dissoziation der Eiweißsalze erklärt sich schließlich ungezwungen die folgende Erfahrung über die Bindung von Säuren verschiedener Stärke an das Eiweiß.

Vergleicht man isohydrische Konzentrationen (gleichen H-Ionengehalts) einer starken und schwachen Säure, so sind dieselben naturgemäß dadurch verschieden, daß im ersten Falle neben dem dissoziierten Anteile nur geringe oder ganz verschwindende Mengen von Säuremolekülen vorhanden sind, während diese im letzteren Falle schon bei mäßigen Konzentrationen in beträchtlicher Zahl bestehen. In den mit einer starken Säure isohydrischen Konzentrationen schwacher Säuren ist also durch den Überschuß freier Säure die Möglichkeit einer erheblichen Zurückdrängung der Hydrolyse des mit Eiweiß gebildeten Salzes gegeben, woraus eine ganz bedeutende Mehrbindung von schwacher Säure an das Protein im Vergleich mit einer starken Säure desselben H-Ionengehalts resultieren wird. Das zeigt sich in der Tat ausnahmslos in unseren Ver-

[1]) Von den in dieser Arbeit gegebenen Gesichtspunkten aus bedarf die Frage der hydrolytischen Dissoziation der Salze des Desaminoglutins einer neuerlichen Untersuchung. Aus der von L. Blasel und J. Matula ermittelten Kurve der Salzsäurebindung würde sich ein Hydrolysegrad von 32 % für das Chlorid des 0,75 %igen Desaminoglutin berechnen.

suchen, worüber einige aus denselben berechnete Beispiele der folgenden Tabelle belehren.

Tabelle XVIII.

	Säure	Konzentration	H-Ionengehalt	Undissoziierte Säure	An Protein gebunden
Serumalbumin	HCl	0,002 n	$1{,}96 \cdot 10^{-3}$ n	$0{,}04 \cdot 10^{-3}$ n	$1{,}98 \cdot 10^{-3}$ n
	CH_3COOH	0,2 n	$1{,}80 \cdot 10^{-3}$ n	$198{,}20 \cdot 10^{-3}$ n	$8{,}60 \cdot 10^{-3}$ n
Glutin	H_2SO_4	0,005 n	$4{,}26 \cdot 10^{-3}$ n	$0{,}74 \cdot 10^{-3}$ n	$4{,}88 \cdot 10^{-3}$ n
	CH_3COOH	0,1 n	$1{,}31 \cdot 10^{-3}$ n	$98{,}70 \cdot 10^{-3}$ n	$5{,}06 \cdot 10^{-3}$ n
	CH_3COOH	0,2 n	$1{,}80 \cdot 10^{-3}$ n	$198{,}20 \cdot 10^{-3}$ n	$8{,}00 \cdot 10^{-3}$ n

Ein analoges Verhalten wurde früher in unserem Institut von R. Chiari[1]) bei der Quellung von reinstem Glutin gefunden, die in schwachen Säuren weit ausgiebiger ist als in isohydrischen Konzentrationen von starken.

Im Anhange sei schließlich hervorgehoben, daß elektrometrisch ein zeitlicher Vorgang bei der Säurebindung an das Eiweiß nicht zu konstatieren ist, indem während 30 Stunden nach der Mischung bei 18° fortlaufend ausgeführte Messungen der H-Ionenkonzentration (0,02 n-HCl + 1,26 % Albumin) konstante Werte ergaben.

Wir dürfen es nunmehr als ein gesichertes Ergebnis der letzten Arbeiten dieser Untersuchungsreihe bezeichnen, daß die Salze von Proteinen mit Säuren im allgemeinen typisch unter Dissoziation des Säureanions ionisieren und einer, bei Berücksichtigung des mehrwertigen basischen Charakters des Eiweißes, durchaus normalen hydrolytischen Dissoziation unterliegen. Auf dem Boden der allgemeinen Theorie der Hydrolyse A. Werners ist eine solche bei den Eiweißsalzen ganz verständlich, unabhängig davon, ob man dieselben als Aquosalze oder als hydratisierte Komplexe betrachtet.

Der gewonnene Standpunkt läßt sich ohne weiteres auch gegenüber den Alkaliproteinen und den höchst verwickelten Beziehungen der Eiweißkörper zu Säuren in sehr niedrigen Konzentrationen festhalten, worüber die Untersuchungen am Institut schon seit längerer Zeit abgeschlossen sind.

[1]) Diese Mitteilungen XI, diese Zeitschr. 33, 167, 1911.

Ein Mikrorespirationsapparat und einige damit ausgeführte Versuche über die Temperatur-Stoffwechselkurve von Insektenpuppen.

Von

August Krogh.

(Aus dem zoophysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 30. März 1914.)

Mit 5 Figuren im Text.

Wenn man einen Barcroftschen Apparat für Differential-Blutgas-Analysen in beiden Behältern mit ein wenig alkalischer Flüssigkeit (2 % NaOH) beschickt und in den einen ein ganz kleines Tier in solcher Weise hineinbringt, daß es nicht in die Lauge gerät, hat man sogleich einen Respirationsapparat, in dem die Sauerstoffaufnahme des Tieres mit großer Genauigkeit aus der allmählich stattfindenden Druckänderung bestimmt werden kann, weil die ausgeschiedene Kohlensäure sehr schnell von der Lauge aufgenommen wird.

Die direkte Anwendung des Barcroftschen Apparates für Respirationsversuche ist jedoch in gewissen Beziehungen recht unbequem, und ich habe daher einen Apparat konstruiert, der prinzipiell dem Barcroftschen ganz analog ist, aber in technischen Einzelheiten etwas abweicht.

Mein Apparat[1]) besteht aus einem mit Millimeterskala versehenen capillären Manometer. Die beiden Schenkel der Manometerröhre sind oben mit dickwandigen Kautschukschläuchen versehen und können mittels ein und desselben Schraubenquetschhahns verschlossen werden. Nach hinten ist jeder Manometerschenkel mit einer Zweigröhre versehen und hierdurch wird er mittels Kautschukschlauch mit dem Tier-

[1]) Von der Firma F. C. Jacob, Hauserplads, Kopenhagen, geliefert.

behälter — resp. Kontrollbehälter — in Verbindung gesetzt. Das Manometer ist zum Aufhängen an der Wand von Wasserbädern (Aquarien) eingerichtet. Die Tierbehälter können gewechselt werden, und man kann für jedes Tier, an dem man Bestimmungen zu machen wünscht, einen entsprechenden Behälter finden oder einrichten. Für die meisten Zwecke ausreichend und überall billig in verschiedenen Größen zu haben, sind Freudenreichs Kolben, wie sie für Bakterienkulturen verwendet werden. Man sucht sich zwei Behälter von möglichst gleichem Volumen aus. Beide werden mit der gleichen Menge — je nach Größe 1 bis mehrere Kubikzentimeter — 2 $^0/_0$ Natronlauge beschickt und in den einen wird das Versuchstier eingebracht. In den meisten Fällen kann man das Tier, in einem kleinen Säckchen aus Seidengaze eingeschlossen, aufhängen. Die Behälter werden sorgfältig verschlossen, an den beiden Schenkeln des Manometers aufgehängt und soweit belastet, daß sie ins Wasser hinuntersinken.

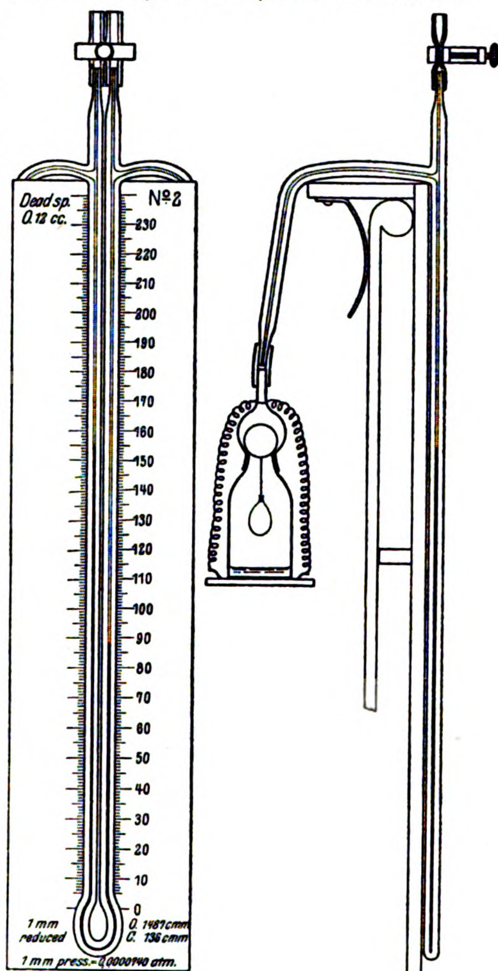


Fig. 1. Der Mikrorespirationsapparat.

Nachdem die beiden Behälter in Wasser von konstanter Temperatur gebracht worden sind, wartet man wenigstens eine Viertelstunde, bevor man den Apparat verschließt, damit Tem-

peraturgleichheit eintreten kann. Sowohl während dieser Vorperiode, wie auch während der Versuche selbst, muß das Bad sehr sorgfältig durchgemischt werden, so daß die beiden Behälter stets genau dieselbe Temperatur haben. Selbst eine ganz kleine Temperaturdifferenz kann, wie eine Berechnung zeigt, große Fehler bedingen.

Nachdem das Manometer verschlossen ist, liest man zu bestimmter Zeit den Stand ab und wiederholt die Ablesung in passenden Zeitintervallen. Jede Ablesung (die erste ausgenommen) gibt mit der zugehörigen Zeitdifferenz dividiert eine Bestimmung der Sauerstoffabsorption. Bei konstantem Gaswechsel ist die Druckänderung, pro Minute oder Stunde berechnet, jedenfalls nach der ersten Stunde absolut konstant, wie die unten angegebenen Beispiele zeigen werden.

Die Berechnung der Sauerstoffabsorption erfolgt am bequemsten nach der von mir früher gegebenen Formel[1]): Das Volumen des Tierbehälters mit zugehörigem Manometerschenkel sei A, das des Kompensationsbehälters C, der ursprüngliche Druck sei P, die abgelesene Druckdifferenz d mm, der Druck von 1 mm Manometerflüssigkeit p und die Volumenabnahme von A, die von dem Emporsteigen der Manometerflüssigkeit in der zugehörigen Röhre verursacht wird, sei $a = \frac{d}{2} \cdot v$, wo v das Volumen von 1 mm der Manometerröhre ist. Man hat dann die verschwundene Sauerstoffmenge

$$\frac{AP - A'P'}{760} = A d p + \frac{P}{760} a \frac{A + C}{C} = d \left(A p + v \cdot \frac{P}{760} \cdot \frac{A + C}{2C} \right).$$

Die Volumia A und C werden durch Auswiegen mit Wasser bestimmt und Korrekturen für die Volumina der Natronlauge, des Tieres usw. angebracht. p wird aus dem spezifischen Gewicht der Manometerflüssigkeit berechnet, v durch Kalibrierung der Manometerröhre mit Quecksilber ein für alle mal bestimmt.

---

[1]) Skand. Arch. Physiol. 18, 382, 1906. — Barcroft (Journ. of Physiol. 37, 16, 1908) hat auf etwas abweichende Weise eine analoge Formel abgeleitet, die aber nur, wenn die beiden Behälter des Apparates von gleichem Volumen sind, anwendbar ist.

Es leuchtet ein, daß die Größe Ap leicht mit sehr großer Genauigkeit bestimmt werden kann. Die Größe vP bietet darum gewisse Schwierigkeiten, weil die Manometerröhren nie ganz kalibrisch sind, und es ist ferner unbequem, den Anfangsdruck jedesmal am Barometer ablesen und in die Rechnung einführen zu müssen. Es ist daher außerordentlich vorteilhaft, wie Barcroft auch angegeben hat, die Manometerröhren eng zu wählen. In sehr engen Röhren kann man aber nur leichtbewegliche Flüssigkeiten anwenden, und ich bin daher zur Anwendung von reinstem käuflichen Petroleum in Röhren von 0,4 bis höchstens 0,5 mm Durchmesser übergegangen. v ist dann gleich 0,126 bis höchstens 0,199 cmm, 1 mm Petroleum entspricht 0,0000740 Atm. Druck, und wenn ich einen Behälter von 40 ccm anwende, habe ich $Ap = 40 \cdot 10^3 \cdot 7{,}40 \cdot 10^{-5} = 2{,}96$ cmm. Es leuchtet ein, daß die verschiedenen Korrekturen, die bezügl. v anzubringen sind, nur einen sehr kleinen Einfluß haben können. Ich reduziere daher v ein für allemal von gewöhnlicher Temperatur und mittleren Barometerstand (17° und 755 mm) auf 0° und 760 mm, und das reduzierte Volumen wird mit dem direkt bestimmten auf jeden Manometer eingeschrieben.

Wenn die zwei Behälter A und C nicht mehr als 10% verschieden sind, was gewöhnlich sehr leicht zu erreichen ist, wird auch die Korrektur $\frac{A + C}{2C}$ belanglos, und der Gaswert von 1 mm wird einfach gleich dem korrigierten Volumen des Tierbehälters in Kubikzentimeter ausgedrückt mit $7{,}40 \cdot 10^{-5}$ multipliziert + dem reduzierten Volumen von 1 mm der Manometerröhre.

Bei den genauesten Versuchen, die bei verschiedenen Temperaturen angestellt werden, kann es notwendig sein, noch die thermische Ausdehnung und daraus folgende Änderung des spezifischen Gewichts der Manometerflüssigkeit zu berücksichtigen. Dies geschieht am bequemsten dadurch, daß man die gesamte Länge der Flüssigkeitssäulen in den Manometerschenkeln unter den verschiedenen Bedingungen abliest und notiert und dann das gefundene Längenverhältnis als Reduktionsfaktor benutzt.

Als vollständiges Versuchsbeispiel gebe ich folgenden Versuch an einer Mehlwurmpuppe im Ruhestadium. Gewicht 0,173 g.

Vol. *A*	= 40,95 ccm	Vol. *C*	= 49,98 ccm
„ des Manometerschenkels	+ 0,12 „		+ 0,12 „
„ der Natronlauge	— 2,00 „		— 2,00 „
„ des Tierbodens	— 0,25 „		
„ „ Tieres	— 0,17 „		
„ *A* korrigiert	38,65 ccm	*C* korrig.	48,10 ccm

$v = 0{,}149$ cmm, v auf 0^0 und 760 mm reduziert $= 0{,}136$ cmm.

$$v\frac{A+C}{2C} = 0{,}136 \cdot \frac{86{,}75}{96{,}20} = 0{,}123 \text{ cmm},$$

$$Ap = 38{,}65 \cdot 10^3 \cdot 7{,}40 \cdot 10^{-5} = 2{,}86 \text{ cmm}.$$

Jedes Millimeter Druckdifferenz entspricht $2{,}86 + 0{,}123 = 2{,}983$ cmm.

Gesamtlänge der Flüssigkeitssäulen im Manometer bei 17^0 $218{,}2 + 60 = 278{,}2$ mm.

Um 2 Uhr wurde der Apparat aus 15^0 in ein Wasserbad von $28{,}2^0$ gebracht. Die Länge der Flüssigkeitssäulen wurde als $218{,}9 + 60 = 278{,}9$ mm gemessen und der Sauerstoffwert eines Millimeters wird demnach $2{,}983 \cdot \frac{278{,}2}{278{,}9} = 2{,}975$ cmm.

Der Respirationsversuch wurde um 2 Uhr 20 Minuten begonnen, und die folgenden Ablesungen wurden gemacht:

Zeit	Manometerablesungen				Totaldifferenz
	A	Diff.	*C*	Diff.	
2^{22}	111,1		107,8		
2^{25}	112,1	1,0	106,8	1,0	2,0
2^{28}	112,9	0,8	106,0	0,8	3,6
2^{51}	118,5	5,6	100,1	5,9	15,1
2^{54}	119,0	0,5	99,6	0,5	16,1
3^{10}	122,3	3,3	96,0	3,6	23,0
3^{13}	123,0	0,7	95,1	0,9	24,6
4^{05}	133,5	10,5	84,1	11,0	46,1
4^{08}	134,1	0,6	83,4	0,7	47,4
4^{11}	135,0	0,9	82,7	0,7	49,0

Wenn man die Änderung während verschiedener Zeitintervalle berechnet, findet man

Zeit	Dauer Min.	Druckänderung mm	Druckänderung pro Min. mm	Abweichung %
2^{23}—2^{28}	5	3,6	0,72	—
2^{25}—2^{51}	26	13,1	0,504	—
2^{28}—2^{54}	26	12,5	0,481	—
2^{51}—3^{10}	19	7,9	0,416	— 1,4
2^{54}—3^{13}	19	8,5	0,447	+ 5,9
3^{10}—4^{05}	55	23,1	0,420	— 0,05
3^{13}—4^{08}	55	22,8	0,415	— 1,7

Im Mittel für die Periode von 2^{52} bis 4^{08}, während welcher der Gaswechsel praktisch konstant gefunden ist, hat man pro Minute 0,422 mm Druckänderung und die Sauerstoffabsorption ist daher $0,422 \cdot 2,975 = 1,256$ cmm pro Minute oder 431 ccm pro Kilogramm und Stunde.

Um 4^{30} wurde der Apparat geöffnet und in ein Wasserbad von 22,6° gebracht. Die Länge der Flüssigkeitssäulen wurde um 5 Uhr als $218,3 + 60$ mm gemessen. Der Apparat wurde verschlossen und die folgenden Bestimmungen gemacht:

Zeit	Dauer Min.	Druckänderung mm	Druckänderung pro Min. mm	Abweichung %
5^{07}—5^{12}	5	1,2	0,24	— 5
5^{07}—5^{38}	31	7,4	0,239	— 5
5^{10}—5^{41}	31	8,0	0,258	+ 2,4
5^{13}—5^{44}	31	7,9	0,255	+ 1,2
5^{41}—6^{09}	28	7,0	0,250	— 0,8
5^{44}—6^{12}	28	7,0	0,250	— 0,8
6^{09}—7^{06}	57	14,6	0,256	+ 1,2
6^{12}—7^{09}	57	14,6	0,256	+ 1,2
5^{07}—7^{09}	122	30,7	0,252	

Sauerstoffabsorption pro Minute daher 0,752 cmm, pro Kilogramm und Stunde 257,5 ccm.

Es geht aus den beiden kleinen Tabellen hervor:

1. Daß die einzelnen Ablesungen auf ungefähr 0,5 mm genau sind.

2. Daß in den ersten 40 bis 50 Minuten nach Temperaturwechsel scheinbar Stoffwechselschwankungen vorkommen, daß aber danach der Gaswechsel der Puppen außerordentlich konstant ist und schon in kurzen Perioden mit großer Genauigkeit bestimmt werden kann.

Am bequemsten orientiert man sich über die Konstanz des Stoffwechsels, wenn man die abgelesenen Druckdifferenzen auf Millimeterpapier einträgt mit den Zeitdifferenzen in Minuten als Abszissen. Fig. 2 zeigt ein Beispiel von gleichzeitigen Bestimmungen an drei Puppen bei drei verschiedenen Temperaturen. Wenn man eine gerade Linie durch die Punkte ziehen kann, ist der Stoffwechsel konstant, und man kann

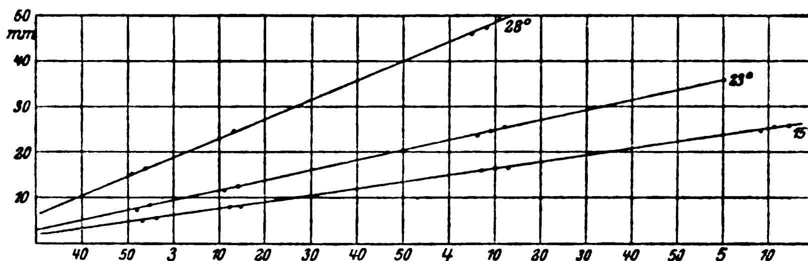


Fig. 2. Druckänderungen in drei Respirationsapparaten.

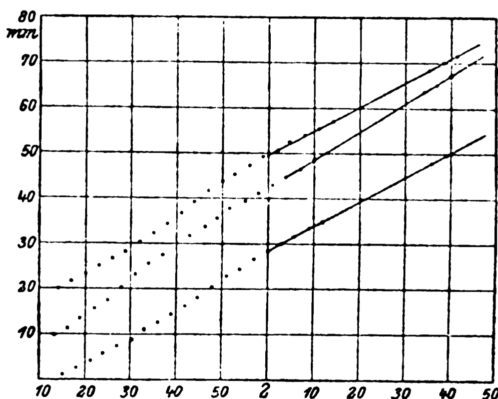


Fig. 3.

seine Größe in Millimeter pro 60 oder 100 Minuten direkt ablesen. In Fig. 3 sind die Ablesungen jede Minute gleich nach der Übertragung von allen drei Apparaten in dasselbe Wasserbad vorgenommen. Während der ersten 50 Minuten ist der Stoffwechsel nicht konstant, aber von ungefähr 2 Uhr an werden die Punktreihen gerade Linien.

Bestimmungen von respiratorischen Quotienten. Die Methode, wie bisher beschrieben, gibt nur über den Sauerstoffverbrauch des Versuchstieres Auskunft. Man kann aber

auch den respiratorischen Quotienten bestimmen. Es würde am nächsten liegen, dies so zu machen, daß man eine genau abgemessene, beinahe CO_2-freie Laugenquantität in beiden Behältern benutzte und dann nach Beendigung der Sauerstoffbestimmung das Tier entfernte, ein Schälchen mit überschüssiger Säure hineinstellte, die aufgenommene CO_2-Menge frei machte und direkt am Manometer bestimmte. Solche Versuche sind ausgeführt worden, aber die Fehlerquellen sind zu groß, um das Erlangen von befriedigenden Resultaten zu erlauben. Ich habe daher einen anderen Weg eingeschlagen, der auch früher von Thunberg angegeben ist. Ich beschicke die beiden Behälter eines Apparates nur mit einem Tropfen Wasser. Die Kohlensäure wird dann nicht absorbiert und die Bewegung der Manometerflüssigkeit zeigt die Differenz zwischen Sauerstoffabsorption und Kohlensäureproduktion an. Wenn man dann nachher einen gewöhnlichen Versuch mit demselben Tiere macht, kann man den Quotienten aus beiden berechnen.

Beispiel:

Tenebriopuppe, Gewicht 0,13 g				Tenebriopuppe, Gewicht 0,15 g			
19 Std.,	$O_2 - CO_2$	= 0,207 cmm	p. m.	4 Std.	O_2	= 0,982 cmm	p. m.
5 „	O_2	= 0,791 „	p. m.	5 „	$O_2 - CO_2$	= 0,330 „	p. m.
Daraus	CO_2	= 0,584 „	p. m.	Daraus	CO_2	= 0,652 „	p. m.
Resp. Quotient	0,738			Resp. Quotient	0,664		

Wenn die Bestimmung eine genaue sein soll, ist es notwendig, daß der Stoffwechsel des Tieres in beiden Perioden genau derselbe ist. Man tut daher am besten, den Versuch gleichzeitig mit zwei Tieren zu machen in zwei Apparaten, von denen der eine mit Wasser, der andere mit Natron beschickt bleibt. Nach dem ersten Versuch werden dann die Tiere einfach vertauscht.

Die Grenzen der mikrorespirometrischen Methode.

Man könnte glauben, daß es vorteilhaft sein würde, kleinere Behälter im Verhältnis zu den Tieren zu benutzen, um größere Manometerausschläge zu erzielen. Dem ist aber nicht so. Erstens würde man dabei Ap kleiner im Verhältnis zu v machen, was nicht vorteilhaft ist, zumal Ap genau bestimmbar, v dagegen immer mit schwer umgänglichen Fehlern behaftet ist. Zweitens würde dabei die Laugenoberfläche ver-

mindert. Meiner Erfahrung nach sollte man nie eine geringere Größe als 20 ccm pro 0,1 g Tier anwenden. Andererseits kann man aber mit Behältern von 20 ccm noch genaue Bestimmungen an viel kleineren Organismen erhalten. Ich habe z. B. sehr gute Resultate in Versuchen mit Insekteneiern von 5 mg Gesamtgewicht gehabt, an denen ich die Sauerstoffabsorption in 4 bis 10stündigen Perioden bis an die Ausschlüpfung verfolgen konnte.

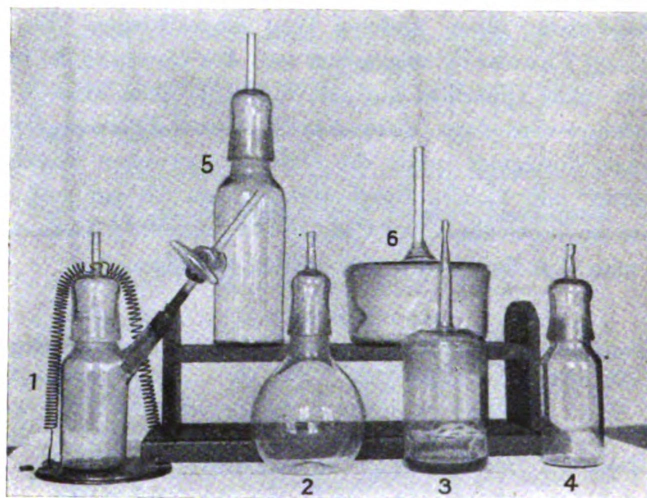


Fig. 4.

Bei großen Behältern macht sich der Mangel an Durchmischung der Luft und der Lauge als störender Fehler bemerkbar, und ferner wird es schwieriger, beide Behälter bei genau derselben konstanten Temperatur zu halten. Ich habe gefunden, daß man nicht über 200 ccm und somit nicht über 1 g Tiergewicht hinausgehen sollte. Die Behälter wähle man immer dünnwandig und von möglichst runder Form, um die Temperaturkonstanz und die Gasdiffusion im Innern zu fördern. Fig. 4 zeigt einige Tierbehälter, die ich benutzt und als zweckmäßig befunden habe. Nr. 1 ist für Durchspülung und Füllung mit einer von der gewöhnlichen abweichenden Atmosphäre eingerichtet. 3 und 6 sind mit einspringenden Glasknöpfen versehen, auf die ein durchlöcherter Zwischenboden eingelegt werden kann.

Bestimmungen bei wechselnder Intensität der Kohlensäureproduktion.

In Apparaten dieser Art ist natürlich der CO_2-Prozentgehalt im Tierbehälter nie gleich Null, sondern er muß eine gewisse Größe haben, damit Gleichgewicht zwischen Produktion und Absorption bestehen kann. Bei wechselnder Intensität der Kohlensäureproduktion muß sich die CO_2-Menge im Tierbehälter ändern, und dies muß zu Fehlern Veranlassung geben, besonders wenn der CO_2-Prozentgehalt ein hoher ist, weil bei den Sauerstoffabsorptionsmessungen davon ausgegangen wird, daß die Kohlensäuremenge konstant bleibt. Sinkt z. B. die CO_2-Menge während einer Stunde von 20 bis 10 cmm, wird man in derselben Zeit eine 10 cmm zu hohe O_2-Absorption ablesen. Ich habe daher an einem Apparat mit 40-ccm-Behältern (Fig. 4, Nr. 3) die Geschwindigkeit der Kohlensäureabsorption bei verschiedenen CO_2-Mengen gemessen. Der Apparat wurde wie gewöhnlich in ein Wasserbad aufgehängt, und, nachdem Temperaturkonstanz eingetreten war, wurde etwas CO_2-haltige Luft in den einen Behälter eingeführt und nach erfolgter Druckausgleichung der Apparat verschlossen. Das Manometer fing nun an, sich zu bewegen, und jede Minute wurde der Stand notiert, bis er konstant wurde und die Kohlensäureabsorption somit beendet war.

Aus den Resultaten hat sich die folgende kleine Tabelle ableiten lassen:

CO_2 im Apparat		CO_2 absorbiert pro Minute
%	cmm	cmm
0,1	40	14,0
0,05	20	5,0
0,02	8	2,0
0,01	4	0,9
0,005	2	0,3

Die CO_2-Produktion wird nur selten 2 cmm pro Minute übersteigen und der CO_2-Prozentgehalt ist daher immer niedriger als in der freien Atmosphäre. Die Änderungen, die selbst bei starken Schwankungen des Stoffwechsels (50 %) entstehen, können, sind praktisch bedeutungslos, da sie in Versuchen von 1 Stunde Dauer höchstens ein paar Prozent Fehler auf den stündlichen Sauerstoffverbrauch bewirken können.

Der Einfluß der Temperatur auf den Stoffwechsel von Mehlwurmpuppen.

Mit dem beschriebenen Mikrorespirationsapparat habe ich unter anderem eine Versuchsreihe über die Temperatur-Stoffwechselkurve von Tenebriopuppen gemacht. Früher habe ich Versuche veröffentlicht[1]), in denen die totale CO_2-Ausscheidung während der Puppenzeit bestimmt wurde. Diese Versuche ergaben, daß die CO_2-Ausscheidung bei allen untersuchten Temperaturen (20—33°) unabhängig von der Temperatur und konstant war. Wenn die Entwicklungsgeschwindigkeit proportional mit dem Temperaturzuwachs ist, wird die stündliche CO_2-Produktion im Durchschnitt gleichfalls eine lineare Funktion der Temperatur. Jetzt habe ich untersucht, ob dieses auch für eine bestimmte Periode des Puppenlebens, die nämlich, während welcher der Stoffwechsel auf sein Minimum abgesunken ist, Gültigkeit hat. Ich führe die Versuche auch deshalb hier an, weil sie die große Genauigkeit des Mikrorespirationsverfahrens deutlich zeigen.

Drei Tenebriopuppen, die sich innerhalb 12 Stunden vom 10. III. nachm. bis 11. III. vorm. verpuppt hatten, wurden am 12. III. morgens auf 28° gebracht und dann nach 126 Stunden in die Respirationsapparate 1, 2 und 3 hinübergeführt und zu Versuchen verwendet[2]). Das Gewicht der drei Puppen 1, 2 und 3 war respektive 0,164, 0,173 und 0,152 g. Die Versuche wurden im Serienthermostat[3]) gleichzeitig mit den drei Apparaten angestellt, aber die Reihenfolge der Temperaturen war für jeden Apparat verschieden. Bei den höheren Temperaturen konnten die Versuche in 2—4 Stunden durchgeführt werden, bei den niedrigen dauerte es entsprechend länger. Bei jeder Temperatur wurde fast absolute Konstanz des Stoffwechsels

---

[1]) On the rate of development and CO_2 production of chrysalides of Tenebrio molitor at different temperatures. Zeitschr. f. allg. Physiol. **16**, 178, 1914.

[2]) Den in der zitierten Abhandlung gegebenen Kurven zufolge soll der Stoffwechsel zu diesem Zeitpunkt eben zu steigen anfangen, und es wäre besser gewesen, wenn die Versuche 24 Stunden früher angestellt worden wären. Dies wurde jedoch aus äußeren Gründen verhindert.

[3]) Krogh, Thermostate und Thermoregulation. Zeitschr. f. biol. Techn. 3, 262, 1913.

beobachtet, wie es die oben angeführten Beispiele zeigen. Mit Apparat Nr. 1 wurde zweimal ein Versuch (Nr. 3 und 5) bei 22,7° angestellt. Mit Nr. 2 wurden die Versuche 2 und 6 bei ungefähr 15° und mit Nr. 3 die Versuche 1 und 6 bei ungefähr 10,5° angestellt. In allen drei Fällen zeigte es sich, daß der Gaswechsel in der Zwischenzeit etwas angestiegen war, wie man es auch erwarten mußte. Um völlig vergleichbare Werte zu erhalten, wurde daher jedes Resultat mit einem Korrektionsfaktor (siehe die Tabelle) multipliziert. Der Korrektionsfaktor wurde so gewählt, daß die beiden direkt vergleichbaren Versuche gleich gemacht wurden. Früher angestellte Versuche wurden dann mit einer etwas höheren Zahl, spätere mit einer etwas niedrigeren multipliziert, und es wurde darauf Rücksicht genommen, daß der Stoffwechsel bei höheren Temperaturen sich schnell, bei niedrigen dagegen sehr langsam verändert. Bei 32,7° dauert das Puppenstadium 138 Stunden, bei 20,9° dagegen 320 und bei 13,5° sogar 1120 Stunden.

Tier Nr.	Versuch Nr.	Temperatur °C	O_2 pro Kilogramm u. Std. ccm	Korrektionsfaktor	O_2 korrigiert ccm
1.	1	14,65	95,7	1,05	100,5
	2	18,9	165,3	1,04	172
	3	22,7	249	1,02	254
	4	28,3	420	1,00	420
	5	22,75	260	0,98	255
	6	10,6	51	0,98	50
	7	32,5	603	0,97	585
2.	1	10,5	51	1,03	52,5
	2	14,8	105,9	1,03	108
	3	28,3	431	1,01	434
	4	22,6	257,5	1,00	257
	5	18,8	178	0,98	174
	6	15,05	113,7	0,97	110
	7	32,5	616	0,96	592
3.	1	10,3	58,5	1,03	60
	2	22,7	291,8	1,03	300,5
	3	18,75	183,5	1,01	185,5
	4	14,85	115	1,00	115
	5	28,35	496	0,99	491
	6	10,7	65	0,97	63
	7	32,5	667	0,97	647

Der Stoffwechsel pro Kilogramm ist für die drei Puppen etwas verschieden und die bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Werte sind daher nicht direkt vergleichbar. Um einen

Vergleich möglich zu machen, habe ich für jedes Tier die Temperatur-Stoffwechselkurve gezeichnet, mit der Temperatur als Abszisse und dem Stoffwechsel als Ordinate.

Diese Kurven haben folgendes ergeben:

Temp.	O_2 pro kg und Std. in ccm			Verhältnis		O_2 pro kg und Std. in ccm reduziert			Mittel
°C	1.	2.	3.	2 : 1	2 : 3	1 × 1,03	2	3 × 0,898	
10,0	42	45	52	1,07	0,905	43,3	45	46,7	45
15,0	106	110	123	1,04	0,895	109	110	110,5	110
20,0	194	198	222	1,02	0,892	200	198	199,5	199
25,0	317	325	368	1,02	0,884	327	325	331	328
30,0	483	493	550	1,02	0,896	498	493	494	495
32,5	585	592	647	1,01	0,914	603	592	581	592
			Mittel	1,03	0,898				

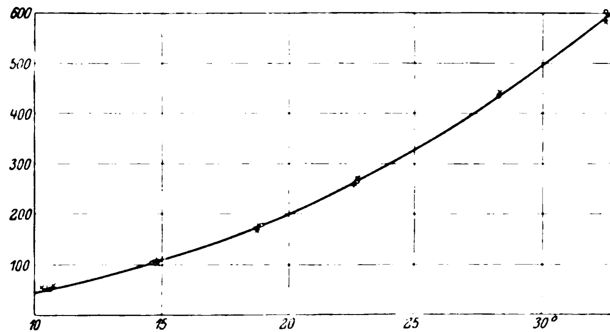


Fig. 5.

Das Verhältnis zwischen dem Stoffwechsel von je zwei Puppen ist bei allen untersuchten Temperaturen innerhalb der Fehlergrenzen konstant. Daraus folgt, daß die drei Kurven in Wirklichkeit identisch sind und zu einer einzigen vereinigt werden können. Die gemittelte Kurve ist dann aus den Zahlen in der letzten Kolumne konstruiert und in Fig. 5 gezeichnet. Hier sind dann auch alle Einzelbeobachtungen eingezeichnet, indem die Werte für Puppe 1 mit 1,03, für Puppe 2 mit 1,00 und für Puppe 3 mit 0,898 multipliziert sind. Wie man sieht, ist die Übereinstimmung eine ganz vorzügliche.

Hier soll nicht näher auf die Bedeutung dieser Kurve eingegangen, sondern nur hervorgehoben werden, daß dieselbe

nicht geradlinig ist, aber auch nicht mittels der Formel von van't Hoff (oder Arrhenius) ausgedrückt werden kann.

Q_{10} hat folgende Werte:

10—15°	5,95
15—20°	3,3
20—25°	2,7
25—30°	2,3
30—32,5°	2,05.

Einen mittleren Q_{10} hieraus zu bilden, würde zwecklos sein und die danach konstruierte Kurve würde die tatsächlichen Verhältnisse nicht wiedergeben.

Untersuchungen über die Verteilung und das Schicksal des kolloiden Silbers im Säugetierkörper.

I. Mitteilung.

Zur Kenntnis des kolloiden Silbers.

Von

J. Voigt (Göttingen).

(Eingegangen am 3. April 1914.)

Von den Vorversuchen, die ich in großer Zahl für das Studium der Verteilung und des Schicksals des kolloidalen Silbers im Säugetierkörper anstellte, wurde eine Reihe von Untersuchungen zu dem Zwecke vorgenommen, die verschiedenen zur Verfügung stehenden Silberhydrosole genauer kennen zu lernen. Eine andere Versuchsreihe hatte die Aufgabe, die Schutzwirkung der üblichen Stabilisierungsmittel zu studieren, um ein für intravenöse Injektionen besonders geeignetes Silberhydrosol herstellen zu können. Auf Grund dieser Versuche wurde ein sehr stabiles, ziemlich konzentriertes kolloidales Silberpräparat hergestellt und einer Anzahl von Kaninchen in verschiedener Menge intravenös injiziert; nach bestimmter Zeit wurden die Tiere dann getötet und auf mehrfache Weise weiter verarbeitet. Da die Gesamtergebnisse meiner Untersuchungen mit mikrophotographischen Tafeln erst in einiger Zeit als Monographie veröffentlicht werden können, scheint es mir gerechtfertigt, die aus bereits abgeschlossenen Versuchsreihen sich ergebenden Beobachtungen und Resultate schon jetzt bekanntzugeben.

Zum Verständnis für die Beobachtung mittels des Ultramikroskops sei hier kurz auf die wichtigsten Tatsachen hingewiesen, die zur Ausbildung dieser Untersuchungsmethode geführt haben. Kleine Gebilde mit einem anderen Brechungsindex als dem des umgebenden Mediums reflektieren seitlich auftreffende Lichtstrahlen diffus und erscheinen so selber leuch-

tend. An Stelle eines außerordentlich kleinen punktförmigen Körpers gewahrt man deshalb ein leuchtendes „Beugungsscheibchen“, dessen Durchmesser weit größer und bis zum 200fachen des Durchmessers des lichtbeugenden (kürzer für „das Licht diffus reflektierenden“) Teilchens erscheint. Ferner können nach den Beobachtungen von Helmholtz und Abbé mit Hilfe des Mikroskops zwei Punkte nur dann einzeln wahrgenommen werden, wenn sie wenigstens um die halbe Wellenlänge des Lichtes voneinander entfernt sind. Es ist deshalb notwendig, durch eine entsprechende Verdünnung des zu untersuchenden Hydrosols die einzelnen lichtbeugenden Teilchen so weit auseinander zu rücken, daß ihr Abstand wenigstens die halbe Wellenlänge des Lichtes beträgt. Wie weiterhin gezeigt werden wird, muß man sich für die Zählung der Teilchen, ohne welche eine Berechnung ihres Lineardurchmessers nicht möglich ist, noch weitergehender Verdünnung bedienen.

Bei der Beobachtung im Ultramikroskop muß man sich aber vergegenwärtigen, daß der optische Nachweis der Existenz sehr kleiner Körper mittels dieses Verfahrens erkauft wird durch den Verzicht auf ähnliche Abbildung derselben. Nimmt doch das Auge die das Licht diffus reflektierenden Teilchen nicht als solche, sondern das durch diesen Vorgang bedingte Beugungsscheibchen wahr, das bedeutend größer ist als diese und mit der Gestalt der Teilchen in keinem Zusammenhang steht.

Die Beobachtung und Zählung der Teilchen, d. h. Beugungsscheibchen, wurde mit Hilfe des neuen verbesserten Ultramikroskops von Zsigmondy durchgeführt, dessen Benutzung mir im Institut für anorganische Chemie zu Göttingen freundlicherweise gestattet wurde. Dieses Instrument macht noch bedeutend kleinere Teilchen wahrnehmbar als das von Siedentopf angegebene, so daß die Zahl der im Gesichtsfeld auftretenden Beugungsscheibchen mit großer Genauigkeit bestimmt werden konnte. Für jede Untersuchung im Ultramikroskop wurde die Ausgangslösung — deren Ag-Gehalt zuvor bestimmt worden war — so lange immer weiter verdünnt, bis im Beobachtungsraum nicht mehr leuchtende Teilchen erschienen, als mit einem Blick umfaßt und gezählt werden konnten. Die Teilchenzahl wurde in 50 oder 100 Zählungen von zwei Be-

obachtern unabhängig voneinander bestimmt und dann eventuell durch nochmaliges Zählen bei höherer Verdünnung kontrolliert. Der Beobachtungsraum wurde durch einen Spalt gebildet, der für die meisten Zählungen einen Raum von 112 μ^3 umfaßte. Aus der Zahl der in 112 μ^3 als Durchschnitt gefundenen Teilchen wurde die Menge der in 1 cmm enthaltenen (n) berechnet. Außer dem spezifischen Gewicht des Silbers (s) brauchte man dann nur noch den Silbergehalt (a) der Ausgangslösung zu kennen, um den Lineardurchmesser der Einzelteilchen nach der Formel $Z = \sqrt[3]{\frac{a}{n \cdot s}}$ ohne weiteres berechnen zu können. Der Silbergehalt der Ausgangslösung, besser „Ausgangshydrosol", wurde nach Eintrocknen eines genau abgemessenen Quantums desselben bis zur Gewichtskonstanz aus dem Gewicht des Glührückstandes gefunden. Diejenigen Präparate, die bereits isotonisiert in den Handel kommen, mußten natürlich sorgfältig von dem zugesetzten NaCl befreit werden. Es gelingt dies mit Hilfe des Ultrafilters (nach Zsigmondy) recht gut, wenn man das auf dem Filter befindliche Präparat nicht eintrocknen läßt, sondern ständig destilliertes Wasser nachfüllt. Dieses Auswaschen auf dem Ultrafilter muß so lange fortgesetzt werden, bis in dem Filtrat mit $AgNO_3$ keine Chlorsilberreaktion mehr zu erhalten ist. Nachdem dann alle Flüssigkeit abgezogen ist, muß man das Kollodiumhäutchen mitsamt dem darunter liegenden Filtrierpapier vorsichtig zur Weiterverarbeitung zusammenfalten. Das Trocknen im Trockenschrank mit nachfolgendem Veraschen und Glühen ist für quantitatives Arbeiten nach meinen Erfahrungen weniger geeignet, da das Kollodium leicht verpufft und dabei etwas von dem Filterrückstand verloren geht. Besser hat sich mir das Verfahren bewährt, die beiden feuchten Filter zusammen in einen Porzellantiegel zu bringen und dort allmählich zu erhitzen; sie brennen dann langsam ab, ohne daß etwas verstäubt wird.

Von kolloidalem Silber standen mir für meine Versuche durch das freundliche Entgegenkommen der betreffenden Fabriken resp. Darsteller folgende Präparate zur Verfügung:

v. Heyden, Radebeul: ca. 10% sog. koll. Silber,
" " : Argoferment,
Rosenberg, Charlottenburg: Fulmargin (stark),

ferner im Institut für anorganische Chemie zu Göttingen nach Carrey Lea hergestelltes kolloidales Silber, sowie ein dem Institut übergebenes, ebenfalls festes kolloidales Silber, bezeichnet R. u. Sch., das neuerdings von der Chemischen Fabrik Reisholz bei Düsseldorf fabrikmäßig dargestellt und in den Handel gebracht wird.

Das kolloidale C-Silber von der Chemischen Fabrik v. Heyden, Radebeul, ist eine ziemlich viscöse, tief dunkelbraune Flüssigkeit; der hohe Gehalt an Schutzkolloid gestattet eine hohe Konzentration des Silberhydrosols. Durch Eintrocknen und Wägen mit nachfolgendem Glühen und wiederholter Wiegung wurde an zwei Proben ein Gehalt an trockenem Schutzkolloid von 1,304 g und ein Silbergehalt von 9,576 g auf 100 ccm der Lösung gefunden. Diese ca. $10^0/_0$ige Kollargollösung zeigt in der Aufsicht keinen grünlichen Schimmer, wie viele andere Präparate; sie ist klar, aber fast undurchsichtig, in entsprechender Verdünnung jedoch durchsichtig. Für die Teilchenzählung mußte das Originalpräparat bis auf 1 : 80000 verdünnt werden, da erst dann die Menge der jeweils im Spaltraum vorhandenen leuchtenden Teilchen so weit herabgedrückt war, daß sie mit einem Blick gezählt werden konnte. Aus 100 Zählungen wurde der Durchschnitt von 1,96 Teilchen auf 112 μ^3 gefunden, die Zahl der Teilchen in 112 μ^3 der Stammlösung wurde daraus als 156800, die in 1 μ^3 enthaltene Menge auf 1400 berechnet. Die Zahl der Teilchen in 1 cmm (n) betrug also $1400 \cdot 10^9$, die Masse in denselben (a) $9577 \cdot 10^{-5}$, das spezifische Gewicht (s) des Silbers ist mit 10,47 in die Rechnung eingesetzt. Der Lineardurchmesser der Einzelteilchen würde nach der Formel $\sqrt[3]{\frac{a}{n \cdot s}}$ 18,7 $\mu\mu$ betragen. Bei weiter durchgeführter Verdünnung konnte man einen Amikronenkegel angedeutet sehen, der auf Zusetzen von reichlich $CaCl_2$ verschwand; statt dieses traten große, wenig bewegliche Teilchen auf.

Die Beobachtung, daß beim Zusetzen des gesondert von der Fabrik beigefügten Isotonisierungs- und Stabilisierungsmittels das unverdünnte oder mäßig verdünnte C-Silber einen grünen Farbton in der Aufsicht bekommt, legte den Gedanken nahe, daß dabei ein Zusammenballen der Submikronen einträte. Es wurde deshalb folgender Versuch gemacht: Eine Original-

ampulle 10%iger Kollargollösung wurde mit Wasser zu 1 : 100 verdünnt; nachdem eine kleine Probe von 2 ccm für weitere Verdünnungen davon entnommen war, wurde der Inhalt einer Originalampulle des Stabilisierungsmittels zugesetzt. Der erwähnte Farbumschlag in der Aufsicht trat sofort ein. Die zum Auszählen nötige Verdünnung betrug 1 : 40000, und 100 Zählungen ergaben 178 Teilchen, also einen Durchschnitt von 1,78, also insgesamt $1{,}78 \cdot 40000 = 71\,200$ pro 112 μ^3 in der unverdünnten Lösung, in 1 μ^3 $\frac{71\,200}{112} = 636{,}8$. Für die Berechnung der Teilchengröße nach der Formel $G = \sqrt[3]{\frac{a}{n \cdot s}}$ war zu setzen:

$$a = 2500 \cdot 10^{-5},$$
$$n = 636{,}8 \cdot 10^{9},$$
$$s = 10{,}47.$$

Daraus wurde der Lineardurchmesser der Teilchen auf 21,6 $\mu\mu$ bestimmt.

Argoferment (v. Heyden, Radebeul) ist ein durch elektrische Zerstäubung gewonnenes stabilisiertes kolloidales Silberpräparat. Sein Silbergehalt wurde ebenfalls nach Ultrafiltration aus dem Gewicht des Glührückstandes berechnet; in 6 ccm des Präparates waren 0,0025 g, in 100 ccm also 0,042 g enthalten. Das Filtrat ergab mit Ferrozyankali und Salzsäure geringe Eisenreaktion. Die Lösung sieht klar braun aus und ist ziemlich hell, zeigt in der Aufsicht keinen grünlichen Schimmer. Im Ultramikroskop sah man ziemlich viel helle Teilchen von den verschiedensten Farben, mit lebhafter Brownscher Bewegung, doch genügt für das Auszählen bereits eine Verdünnung des Präparates auf 1 : 200. Die in 100 Zählungen bestimmte Teilchenzahl war 1,18 in 112 μ^3, für die Stammlösung berechnet 236 pro 112 μ^3, also 2,1 in 1 μ^3. Für die Berechnung der Teilchengröße nach der Formel $G = \sqrt[3]{\frac{a}{n \cdot s}}$ war zu setzen:

$$a = 42 \cdot 10^{-5}$$
$$n = 2{,}1 \cdot 10^{9}$$
$$s = 10{,}47.$$

Die daraus gefundene Teilchengröße beträgt 26,7 $\mu\mu$.

Fulmargin (stark) mit Schutzkolloid ist durch elektrische Zerstäubung hergestellt und isotonisiert. In der Aufsicht hat

es eine stark grünliche Färbung und erscheint trübe; in der Durchsicht ist es ziemlich klar, von brauner Farbe. Beim Lagern in Ampullen setzt sich ein Teil des Silbers in Form eines schwarzen, schlammigen Niederschlags ab. In einer Verdünnung von 5:100 erscheint es zwar heller, hat aber sonst sein Aussehen, besonders auch den grünlichen Schimmer, nicht geändert. Zur Bestimmung des Gehalts an Silber wurden 5 ccm quantitativ entnommen, aus denen das Isotonisierungsmittel durch Ultrafiltration beseitigt wurde; — es wurde NaCl im Filtrat durch $AgNO_3$ nachgewiesen, ferner Spuren von Fe durch Ferrozyankali + HCl, jedoch kein gelöstes Silber. — Das Ultrafilter wurde dann mit dem Rückstand verbrannt. Es wurden für die 5 ccm 5,9 mg Ag gefunden, also 0,120%. Das Auszählen gelingt bei einer Verdünnung der Stammlösung von 1:640. Als durchschnittliche Zahl der Teilchen für den Beobachtungsraum von 112 μ^3 wurden 2,34 Teilchen gefunden, der Verdünnung entsprechend mit 640 multipliziert, ergab 1497,6 Teilchen in 112 μ^3 der Stammlösung, in 1 μ^3 also

$$\frac{1497{,}6}{112} = 13{,}4.$$

Zur Berechnung der Teilchengröße nach der Formel $G = \sqrt[3]{\frac{a}{n \cdot s}}$ war zu setzen:

$$a = 12 \cdot 10^{-5}$$
$$n = 13{,}4 \cdot 10^{9}$$
$$s = 10{,}47.$$

Die daraus gefundene Teilchengröße beträgt 22,3 $\mu\mu$.

Elektrargol, ebenfalls durch Zerstäuben gewonnen, kommt, mit Gummilösung stabilisiert, aber nicht isotonisch in den Handel; das Isotonisierungsmittel wird gesondert in Ampullen beigegeben und soll direkt vor dem Gebrauch zugesetzt werden. Seine Farbe ist in der Aufsicht hellbraungrau mit ganz geringem grünlichen Schimmer; in der Durchsicht ist es klar lichtbraun. Zum Bestimmen des Gehaltes an Ag wurden 4 ccm quantitativ entnommen und ohne Isotonisierungsmittel auf dem Wasserbade getrocknet, gewogen, geglüht und nach dem Abkühlen im Exsiccator wieder gewogen. Man bekam von den 4 ccm einen Glührückstand von 0,0078 g, also auf 100 ccm 0,195 g Ag = ca. 0,2%. Zum Auszählen der Teilchen nahm

man eine Verdünnung der Stammlösung auf 1:200 und 100 Zählungen ergaben 290 Teilchen, also 2,9 in 112 μ^3, für die Stammlösung berechnet $2,9 \cdot 200 = 580,0$ in 112 μ^3, in 1 μ^3 $\frac{580}{112} = 5,18$.

Zur Berechnung der Teilchengröße war in der bekannten Formel zu setzen:

$$a = 20 \cdot 10^{-5}$$
$$n = 5,18 \cdot 10^9$$
$$s = 10,47$$

und ergab einen Lineardurchmesser von 15,45 $\mu\mu$.

Ferner lag zur Untersuchung vor ein trockenes kolloidales Silber, hergestellt im Kaiser-Wilhelm-Institut zu Berlin, gezeichnet „von Dr. R. und Dr. Sch.", welches säure- und elektrolytfest sein sollte. Zunächst wurden zwei parallele Bestimmungen seines Gehaltes an reinem Silber vorgenommen, die 25,0 und 25,26 % Ag ergaben.

0,25 g dieses Präparats wurden in 250 ccm Wasser gelöst, also in einem Verhältnis von 1:1000; die Lösung war blutfarben und hatte in der Aufsicht einen bläulichen Ton. Im Ultramikroskop sah man eine enorme Menge von Teilchen, und es bedurfte einer weitgehenden Verdünnung (1:300000), um die einzelnen Teilchen auf ihre Farbe hin beobachten zu können. Sie waren fast durchweg grün gefärbt, auch blaugrün und gelbgrün, seltener gelb; die blau erscheinenden Submikronen zeigten scharf eingestellt fast immer eine grüne Färbung. Die zum Auszählen nötige Verdünnung betrug 1:600000 und der in 100 Zählungen bestimmte Durchschnitt betrug 1,57 auf 1 μ^3 der Ausgangslösung 1 ‰ berechnet 942. Für die Berechnung der Teilchengröße war in der bekannten Formel zu setzen:

$$a = 25 \cdot 10^{-5}$$
$$n = 2,1 \cdot 10^9$$
$$s = 10,47,$$

daraus berechnet ergab sich eine Teilchengröße von 14,2 $\mu\mu$ Lineardurchmesser.

In einigen Versuchen wurde ein 1,6 %iges Silberhydrosol verwendet, das nach der Vorschrift von Carrey Lea im Institut für anorganische Chemie in Göttingen hergestellt worden war. Die Lösung war etwar 6 bis 8 Wochen alt, sie hatte eine braunrote Farbe und war vollständig klar, ohne Bodensatz.

Zum Auszählen wurde die stabilisierte, nicht isotonische Flüssigkeit auf 1:8000 verdünnt.

Es war bei der Beobachtung im Ultramikroskop zu bemerken, daß neben den gut erkennbaren Submikronen noch zahlreiche Teilchen vorhanden waren, die an der Grenze der Zerteilung standen, die mit dem verbesserten Instrument sichtbar zu machen sind. Außerdem waren auch Amikronen vorhanden, die bei noch weitergehender Verdünnung einen Amikronkegel erscheinen ließen; auf Zusetzen von $CaCl_2$ verschwand dieser und man beobachtete dann nur einzelne ziemlich grobe Teilchen von sehr träger Bewegung.

Der Beobachtungsraum betrug infolge einer Änderung am Ultramikroskop 120,5 μ^3. Die durchschnittliche Zahl der Teilchen in 1 μ^3 betrug für die verdünnte Lösung 2,1 — für die Stammlösung also $2{,}1 \cdot 8000 = 139{,}5$ Teilchen. Für die Berechnung war in die Formel $G = \sqrt[3]{\frac{a}{n \cdot s}}$ einzusetzen:

$$a = 1600 \cdot 10^{-5}$$
$$n = 139{,}5 \cdot 10^{9}$$
$$s = 10{,}47,$$

und es ergab sich daraus ein Durchmesser der Einzelteilchen von 21,9 $\mu\mu$.

Hier müssen wir im Auge behalten, daß damit nur die durchschnittliche Größe der zählbaren Teilchen ausgedrückt wird, daß aber diese Lösung eine beträchtliche Zahl von wesentlich kleineren Teilchen enthält.

Wollen wir diese Resultate übersichtlich in Form einer Tabelle anordnen, so ist:

Präparat	Ausgangslösungen %	Verdünnung derselben z. Zählen	Teilchenzahl der Ausgangslösungen μ^3	Lineardurchmesser d. Teilchen $\mu\mu$	Amikronen
Kollargol (konz.) .	9,576	1:80000	1400,0	18,7	?
Kollargol (stab. isot.)	ca. 2,5	1:40000	636,8	21,6	—
Fulmarin (stark) .	0,12	1:640	13,4	22,3	—
Elektrargol	0,2	1:200	5,18	15,45	—
Argoferment . . .	0,042	1:200	2,1	26,7	—
R. u. Sch. (trocken)	0,1	1:600	8,41	14,2	—
Carrey Lea	1,6	1:8000	139,5	21,9	+

Der Versuch, die vier ersten Präparate nach der Helligkeit ihrer Teilchen resp. Diffraktionsbilder zu gruppieren, nachdem sie bis zu optisch gleicher Konzentration oder Helligkeit verdünnt worden waren, ergab in zwei verschiedenen Anordnungen das gleiche Resultat:

Es gruppieren sich nach der Helligkeit der Beugungsscheibchen diese Präparate in absteigender Reihe:

1. Fulmargin . . . . 24.3 $\mu\mu$
2. Elektrargol . . . . 15,5 „
3. Argoferment . . . . 14,0 „
4. Kollargol . . . . 18,7 „

Diese Beobachtung bestätigt die Erfahrungstatsache nicht durchweg, daß diejenigen Metallhydrosole die hellsten Beugungsscheibchen aufweisen, deren Teilchen die gröbsten sind. Zur Erklärung muß man sich vergegenwärtigen, daß es sich hier um vier Präparate handelt, die nach Art und Konzentration der Stabilisierungsflüssigkeit recht verschieden sind — von denen das isotonische Fulmargin bereits auch Elektrolyte enthält. Vielleicht wird man durch konsequente Versuche auch für die Beeinflussung der Helligkeit der Beugungsscheibchen durch Schutzkolloid und Elektrolyte bestimmte Regeln finden.

Die Behauptung, daß die elektrische Zerstäubung es ermögliche, Silberhydrosole mit bedeutend kleineren Teilchen herzustellen, als die chemisch bewerteten enthalten, soll hier nicht angefochten werden. Von den mir zur Verfügung stehenden Präparaten war der Lineardurchmesser der Teilchen am kleinsten bei dem chemisch dargestellten kolloidalen Silber Dr. R. u. Sch. Die Anordnung der von mir untersuchten kolloidalen Silber nach ihrer Teilchengröße würde folgende sein:

Präparat	Teilchengröße $\mu\mu$	Darstellungsart	Bemerkungen
R. u. Sch.-Silber	14,2	chem.	fest
Elektrargol	15,45	el.	flüssig
C-Silber	18,7	chem.	flüssig
Carrey Lea	21,9	chem.	fest
Fulmargin	22,3	el.	flüssig isot.
Argoferment	26,7	el.	flüssig

Die einzelnen Silberpräparate sind, wie man sieht, in ihrem Gehalt außerordentlich verschieden. Die chemisch bereiteten

Silberhydrosole vertragen zweifellos eine sehr viel höhere Konzentration, als die auf dem Wege der elektrischen Zerstäubung gewonnenen. Die Art der Darstellung des kolloidalen Silbers — physikalisch oder chemisch — erscheint übrigens nicht allein die Möglichkeit der Konzentration zu bedingen, sondern auch die richtige Wahl des Schutzkolloids. Denn es gelingt nur durch entsprechende Stabilisierung, ein ziemlich hoch konzentriertes Silberhydrosol, wie das C-Silber, darzustellen. Doch ist zu beachten, daß sich wohl in allen derartigen Präparaten innerhalb einiger Zeit durch partielles Ausflocken die Konzentration des dispergierten Metalles vermindert. Wird ja von einer Fabrik direkt darauf hingewiesen durch die Aufforderung, einen etwaigen Niederschlag durch kräftiges Schütteln der Ampulle zur Lösung, besser wohl zur Suspension zu bringen. Außerdem ist wohl zu berücksichtigen, daß es zwischen dem ideal kolloidalen Zustande einerseits, in dem sich die Präparate vielleicht im Augenblick ihrer Darstellung befinden, und einem sichtbaren Absetzen andererseits, durch allmählich immer stärkere Teilchenvergröberung unendlich viele Zwischenstufen gibt, die naturgemäß auch den Charakter des Hydrosols ändern. Bei der Bewertung der in der obigen Tabelle zusammengestellten Zahlen muß man sich diese Tatsachen vergegenwärtigen: sie sind nur ein Ausdruck für die zur Zeit der Untersuchung bestehenden Verhältnisse, können aber, der Natur der Silberhydrosole entsprechend, nicht als konstante Werte angesehen werden.

In der weiter unten zu besprechenden Reihe von Untersuchungen über den Wert verschiedener Stabilisierungsmittel für das Arbeiten mit Ag-Hydrosolen am Säugetierorganismus gaben folgende Beobachtungen bei einigen Vorversuchen Veranlassung:

Der Zusatz des Isotonisierungsmittels führt unter allen Umständen zur Teilchenvergröberung mit Farbumschlag; auch die Verwendung einer Stabilisierungsflüssigkeit als Lösungsmittel für die zur Isotonisierung nötigen Elektrolyte vermag hiergegen nicht zu schützen, wie die bereits oben beschriebene Veränderung des 10%igen flüssigen C-Silbers beweist. Obgleich dieses Präparat bei der Herstellung bereits sehr stark geschützt war, verlor es doch auf Hinzufügung des in dem Hydrosol eines Schutzkolloids gelösten Kochsalzes seine rein braune Farbe in der Aufsicht und bekam einen grünlichen Schimmer. Die Unter-

suchung mit Hilfe des Ultramikroskops, Zählung und Berechnung der Teilchen, bewiesen denn auch, daß schon kurz nach Hinzusetzen der Isotonisierungsflüssigkeit die Teilchen wesentlich gröber geworden waren. Daß es sich hierbei aber um einen richtigen Ausflockungsvorgang handelte, bewies die Tatsache, daß man einige Tage später am Boden dieser Flasche einen richtigen Niederschlag von ausgeflocktem Silber fand; auch die weiter unten beschriebene Beobachtung bei dem Versuche nach Carrey Lea, dargestelltes kolloidales Silber isotonisch zu machen, ist für diese Frage von Bedeutung. Wenn man also überhaupt Silberhydrosole isotonisieren will, was bei der relativ kleinen Menge der injizierten Flüssigkeit keineswegs notwendig erscheint, so muß man sich streng an die für Kollargol und Elektrargol gegebene Vorschrift halten, das Isotonisierungsmittel erst direkt vor dem Gebrauch zuzusetzen und das Präparat dann ungesäumt zu injizieren.

Die Schutzwirkung der verschiedenen Stabilisierungsmittel scheint für die einzelnen kolloidalen Silberpräparate nicht gleich stark zu sein, wie aus den gleich zu beschreibenden Beobachtungen hervorgeht. Weiteren Versuchen muß es vorbehalten werden, für jedes einzelne kolloidale Silber das beste Schutzkolloid und, wenn möglich, auch die Ursache des verschiedenen Verhaltens festzustellen. Eine 0,5 %ige Gelatinelösung hat sich mir (siehe weiter unten) als das beste Stabilisierungsmittel für das C-Silber gegenüber Elektrolyten bewährt, doch ist auch dieser Schutz nicht als ein absolut sicherer zu bezeichnen. Gegen starke Ringer-Lösung blieb das Präparat immer empfindlich, wenn auch bei einem bestimmten Mischungsverhältnis die grobe Ausflockung des Silbers verhindert werden konnte. Bei dem Versuche, aus dem trockenen kolloidalen Silber nach Carrey Lea eine Lösung von gleichem Verhältnis herzustellen, flockte bereits auf Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung das ganze Silber katastrophal aus, und nach 2 Stunden war bereits alles Silber abgesetzt; darüber befand sich eine wasserklare Flüssigkeit. Eine 3 %ige Lösung von protalbinsaurem Natrium, zu 6,6 % dem 1 %igen Silbersol hinzugefügt, schützte dasselbe auf Stunden gegen die Einwirkung von physiologischer Kochsalzlösung, so daß die Lösung ihre klare braunrote Farbe bewahrte. Auch die doppelt physiologische Kochsalzlösung

führte hier zunächst keine Ausflockung herbei; innerhalb einiger Tage bildete sich allerdings in beiden Fällen ein leichter Bodensatz, doch blieb ein beträchtlicher Teil des kolloidalen Silbers dispergiert. Selbst auch das neue Silberpräparat, gezeichnet R. u. Sch., das in trockenem Zustande fast genau 75 % Schutzkolloid enthielt und elektrolytfest sein sollte, verlor in der Aufsicht seine dunkel blutrote Farbe und wurde grünlichbraun, sobald einer Lösung dieses Präparats zum Zwecke der Isotonisierung einige Tropfen einer 10 %igen Kochsalzlösung zugesetzt wurden. Die Tatsache, daß stabilisierte Goldhydrosole gegen die Einwirkung von Isotonisierungsflüssigkeiten, also von Elektrolyten, so viel widerstandsfähiger sind, als stark stabilisierte Silberhydrosole, scheint darauf hinzuweisen, daß die besondere Empfindlichkeit von Ag gegen Cl hierbei eine gewisse Rolle spielt.

Die erste Reihe von Versuchen über die Schutzwirkung eines Stabilisierungsmittels (konzentrierte Gummilösung) gegen 0,9 %ige Kochsalzlösung wurde in der Weise angestellt, daß in einer ganzen Anzahl von kleinen Reagensgläsern, die alle mit einem Teil des ca. 10 %igen Silbers beschickt worden waren, eine genau abgemessene, steigende Menge der Lösung des Schutzkolloids zugesetzt wurde; in einzelnen Fällen war die C-Silberlösung durch Wasserzusatz zuvor verdünnt worden. Nachdem das zu prüfende Schutzkolloid eine Zeitlang, wenigstens 10 Minuten, auf das Silberhydrosol eingewirkt hatte, wurde 1 Teil physiologischer Kochsalzlösung dem Inhalt eines jeden Röhrchens zugefügt und derselbe auf etwa eintretende Veränderungen seiner Farbe oder Konsistenz im durchfallenden oder auffallenden Lichte beobachtet.

Tabelle I.

C-Silberlösung	Wasser	Konzentrierte Gummilösung	NaCl-Lösung	Schutzwirkung
1	0	5	1	—
1	0	9	1	—
1	0	19	1	—
1	10	39	1	—
1	20	39	1	—
1	20	60	1	—
1	60	89	1	—
1	0	99	1	±
1	0	119	1	+
1	0	119	10	+

Aus der Zahl dieser Kombinationen wurden drei ausgewählt zu einem zweiten Versuchsteil, um festzustellen, wie sich das von der Fabrik v. Heyden gelieferte Stabilisierungs- und Isotonisierungsmittel in seiner Wirkung auf die C-Silberlösung verhielt, wenn derselben noch ein anderes Stabilisierungsmittel zugesetzt worden war.

Tabelle II.

C-Silberlsg. Teile	Wasser	Gummilösung	v. H. Stab.- u. Isot.-Flüssigkeit	Schutzwirkung
1	20	39	10	—
1	0	99	10	—
1	0	119	10	+

Schließlich wurde dann noch in einer dritten Versuchsreihe untersucht, ob die C-Silberlösung unverdünnt oder verdünnt zusammen mit dem zu untersuchenden Schutzkolloid nach Hinzufügen des v. Heydenschen Stabilisierungs- und Isotonisierungsmittels gegen die Einwirkung von physiologischer Kochsalzlösung widerstandsfähiger geworden sei oder nicht.

Tabelle III.

C-Silberlsg. Teile	Wasser	Gummilösung	v. H. Stab.- u. Isot.-Flüssigkeit	NaCl-Lösung	Schutzwirkung
1	20	39	10	1	—
1	0	99	10	1	—
1	0	119	10	1	+
1	0	119	10	10	+

Aus diesen verschiedenen Versuchsanordnungen geht mit Sicherheit hervor, daß eine konzentrierte Gummilösung eine zu geringe Schutzwirkung besitzt, um ein genügend konzentriertes Silberhydrosol darzustellen, das so stabil ist, daß es für Injektionsversuche am Tier zu brauchen wäre. Die Schutzwirkung einer 0,5 $^0/_0$igen Gelatinelösung wurde zunächst in gleicher Weise im Reagensglas geprüft. Da sich das Ergebnis mit dem der gleich zu beschreibenden Versuchsreihe deckt, soll nicht näher darauf eingegangen werden. Da die bisherige Versuchsanordnung nicht genügte, um feinere Unterscheidungen machen zu können, wurden für eine Beobachtung der Reaktion unter dem

Mikroskop weitere Versuche in der Weise ausgeführt, daß auf einem reinen Objektträger immer 1 Tropfen der frisch bereiteten Mischung von Silberhydrosol-Schutzkolloidlösung ($^1/_2$ $^0/_0$ige Gelatinelösung) und eventuell Wasser einerseits, 1 Tropfen des Isotonisierungsmittels andererseits zusammengebracht wurden. Die an der Berührungsstelle der beiden Tropfen auftretende Reaktion konnte dann im Mikroskop bequem und deutlich beobachtet werden.

Tabelle IV.

C-Silberlösung Teile	Gelatinelösung	Wasser	Isot.-Flüssigkeit	Schutzwirkung	Bemerkungen
1	10	0	Ringer 2 f.	—	Grobes Ausflocken
1	15	0	"	—	do.
1	10	10	"	—	Ausflockung am Tropfenrande
1	10 (warm)	1	"	—	Grünfärbg. am Tropfenrande
1	10 "	2	"	±?	do.
1	10 "	3	"	±	do.
1	10 "	4	"	+	Braun, klar bleibend
1	5	0	NaCl 0,9 $^0/_0$	±	Klar, aber Grünfärbung
1	5	0	Plasma	±	do.
1	5	4	"	±	Klar, aber leichte Grünfärbg.
1	10	4	"	+	Braun, klar bleibend

Auch bei dieser Versuchsanordnung hat sich eine Lösung am besten bewährt, die aus 1 Teil C-Silber auf 4 Teile destillierten Wassers und 10 Teilen einer 0,5 $^0/_0$igen Gelatinelösung besteht. So hat uns diese Versuchsreihe nicht nur das Ergebnis der vorhergehenden Prüfungen bestätigt, sondern es auch ermöglicht, einzelne Übergänge von Zwischenstufen zu beobachten, die von dem infolge genügender Stabilisierung unverändert bleibenden klaren, braunen Silberhydrosol einerseits zu dem klumpigen, schwarzgrünen Silberniederschlag andererseits hinführen. Die bereits bei der Untersuchung mittels des Ultramikroskops beobachtete Erscheinung, daß der Farbumschlag eines Silberhydrosols vom Braunen ins Grüne schon eine Vorstufe der Ausflockung, eine Teilchenvergröberung durch Zusammenballen von Submikronen verrät, hat sich bestätigt. Als weiteres Ergebnis dieser Versuche muß auf die Beobachtung hingewiesen werden, daß es eines ganz bedeutenden Quantums von Schutzkolloid bedarf, um diese Teilchenvergröberung zu ver-

hindern, wenn das Silberhydrosol isotonisiert werden soll, oder auch nur mit einer Lösung von Elektrolyten, wie sie das Blut darstellt, ohne Veränderung zu erleiden, zusammengebracht werden soll.

Weiteren Mitteilungen wird der Bericht über die Tierversuche vorbehalten, die großenteils mit dem auf Grund der vorstehenden Beobachtungen zubereiteten Silberhydrosol angestellt worden sind. Die zweite Mitteilung wird die quantitative Analyse der wichtigsten Organe von einigen dieser Versuchstiere bringen. Eine ausführlichere Mitteilung über die von mir ausgebildete Methode der Dunkelfelduntersuchung und ein Bericht über die hauptsächlichen Befunde der Hell- und Dunkelfelduntersuchung der Organe von einer größeren Zahl von Versuchstieren soll dann folgen; zum Schluß werden dann verschiedene Dunkelfeldbilder zum Zwecke einer Vergleichung zusammengestellt und genauer beschrieben werden.

Erwiderung auf die Arbeit von Waentig und Steche

(diese Zeitschr. Bd. 60, S. 463).

Von

L. Michaelis und H. Pechstein.

(Eingegangen am 3. April 1914.)

Aus den Bemerkungen von Waentig und Steche kann der Leser den Eindruck gewinnen, daß wir in unseren Untersuchungen über die Katalase[1]) nichts Neues gebracht haben, sondern die Arbeiten dieser Autoren zum Teil bekämpft, zum Teil, ohne Neues hinzuzufügen, bestätigt haben. Wir aber meinen, in die Untersuchungen einen neuen Gesichtspunkt hineingebracht zu haben, der, abgesehen von den Untersuchungen von S. P. L. Sörensen[2]), vorher noch nicht berücksichtigt worden war, nämlich den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration. Das erkennen allerdings Waentig und Steche nicht an, sondern meinen, daß sie selbst das gleiche in genügender Weise getan hätten. Sie haben aber keine durch elektrometrische Messung gewonnenen Angaben über die $[H^{\cdot}]$ ihrer Versuche gemacht, und zwar, weil sie glauben, die $[H^{\cdot}]$ ihrer Lösungen auch ohne eine solche genügend definieren zu können. Hier können wir nur konstatieren, daß die großen Fortschritte der elektrometrischen Messung und der Kenntnisse, die sich an diese knüpfen, von den Verfassern doch nicht richtig gewürdigt worden sind.

Unsere Arbeit verfolgte andere Ziele als die von W. und St. Immerhin war es selbstversändlich, daß wir ihre Ergebnisse zu Rate zogen, als wir beim Beginn unserer Versuche auf Erscheinungen stießen, die wir zunächst nicht deuten konnten. Es handelte sich um Irreproduzierbarkeiten unserer Versuche, die wir zunächt auf die von W. und St. beschriebene reversible Schädigung des Fermentes durch Sauerstoffadsorption beziehen zu können glaubten. Für unsere Versuchsanordnung und für unser (wie W. und St. richtig bemerken, altes, abgelagertes, jedoch sehr wirksames) Ferment aus Kalbsleber konnten

[1]) Diese Zeitschr. 58, 320, 1913.

[2]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien II. Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

wir jedoch diesen Faktor sicher ausschließen und erkannten als die Quelle der Unstimmigkeiten den Gehalt der Lösung an anderen Ionen. Sobald dies erkannt war, gelang es uns, durch Berücksichtigung dieses Faktors unsere Versuche in einer den höchsten Ansprüchen genügenden Weise reproduzierbar zu gestalten. Erst nachdem wir uns aufs sorgfältigste durch viele Parallelversuche von der Reproduzierbarkeit unserer Versuche überzeugt hatten, fuhren wir mit den eigentlichen Versuchen fort. Wie weit diese Reproduzierbarkeit in den Versuchen von W. und St. ebenfalls erkannt werden kann, werden wir alsbald erörtern.

Ganz unnötig war es jedenfalls, daß W. und St. die Ergebnisse ihrer Schüttelversuche immer wieder betonen, da wir die Möglichkeit derselben gar nicht bestritten haben, sondern nur bewiesen haben, daß wir bei unserer Versuchsanordnung durch den Einfluß des Schüttelns und der verschiedenartigen Entwicklung oder Retention des gebildeten Sauerstoffs nicht im allergeringsten gestört wurden. Wir schrieben wörtlich: „Nun können wir die Angaben von W. und St. für unsere Versuche nicht bestätigen", und später: „wir können jedenfalls sagen, daß die Reproduzierbarkeit unserer Versuche durch verschiedenen Gehalt an gelöstem Sauerstoff nicht gestört wird". Wir betonen dies, da wir wohl wußten, daß W. und St. ebenfalls Fermentlösungen beobachtet hatten, die eine Schüttelwirkung nicht oder nur minimal gezeigt hatten. Wenn W. und St. uns also den Vorwurf machen, daß die ganze Diskussion unnötig gewesen wäre, wenn wir ihre Arbeiten genauer durchgesehen hätten, so trifft dieser Vorwurf wohl sie selber.

Alles, was die sog. „Inkubationszeit" der Fermentwirkung betrifft, kommt für unsere Versuche absolut nicht in Frage, da unser Ferment niemals auch nur andeutungsweise etwas von dieser Inkubationszeit zeigte. Auch hier mag das Alter unserer Fermentlösung die für uns so günstigen Bedingungen hervorgerufen haben.

Zur Darstellung der Kinetik haben wir die Formel $\varphi^n t = f(x)$ benutzt. W. und St. meinen, daß diese Formel keine allgemeine Bedeutung besitzt. Wir befinden uns hier in bester Übereinstimmung mit W. und St., denn wir schrieben: „Die Regel ist eine rein empirische, etwa so, wie man auch die Adsorptionsisotherme in eine ähnliche empirische Regel gekleidet hat. Das eigentlich demselben zugrunde liegende Gesetz können wir bisher nicht durchschauen." Nun hatten wir durch zahlreiche Versuche empirisch festgestellt, daß der

Wert von n nicht viel um 1,35 schwankte, und zwar bei sehr weitgehender Variation der Fermentmenge, ohne daß sich mit Sicherheit eine Beziehung zwischen Fermentmenge und der Größe von n feststellen ließ. Diese Beobachtung setzte uns daher angenehmerweise in den Stand, die Formel zur relativen *Messung der wirksamen Fermentmenge* bzw. des wirksamen Anteils des Ferments zu benutzen; und nur zu diesem Zweck wendeten wir die Formel an, ohne damit das Wesen dieser Katalyse irgendwie charakterisieren zu wollen. Wir schrieben: „Mit diesen Untersuchungen ist die Frage nach der Zeit-Umsatz-Regel für die Katalase nicht erschöpft. Für uns genügen aber diese Angaben, weil sie uns in den Stand setzen, aus dem Reaktionsablauf die relativ wirksame Fermentmenge mit genügender Genauigkeit zu erschließen, und das genügt uns zur Durchführung der in dieser Arbeit weiterhin zu stellenden Aufgaben."

Was nun die Wirkung der Neutral- und Puffersalze betrifft, so konnten wir zeigen, daß die von uns untersuchten Salze sämtlich *hemmten*, und natürlich mit fallender Konzentration immer weniger; gingen wir unter $^{n}/_{250}$ herunter, so war die Hemmung *praktisch* gleich Null. Daß sie theoretisch noch vorhanden ist, werden wir nicht bestreiten wollen, denn die Hemmung nähert sich mit fallendem Salzgehalt der Null asymptotisch. Das hemmende Agens waren die Anionen, und zwar in der Reihenfolge



$$SO_4 < Cl < \text{Acetat} < NO_3,$$

eine Reihe, die bei vielen biologischen und chemischen Prozessen gleich oder ähnlich oft angetroffen worden ist (vgl. darüber z. B. Höber, Physikal. Chem. der Zelle und der Gewebe, 3. Aufl., S. 354ff.). Diesen Beobachtungen stehen nun die Befunde von W. und St. ziemlich schroff gegenüber, daß Sulfat in geringer Konzentration immer, Acetat *gelegentlich* die Reaktionsgeschwindigkeit beträchtlich *erhöht*, andererseits, daß bei längerer Einwirkung die Sulfatwirkung in eine *Schwächung* übergeht. Ferner sollen sich die Neutralsalze schon bei einer Konzentration von $^{n}/_{1250}$ bemerkbar machen. Als Beweis dafür geben W. und St. z. B. die Tabelle IIIb.

Betrachten wir aber hier den großen Unterschied schon bei der salzfreien Kontrolle mit CO_2-haltigem und CO_2-freiem Wasser (Tab. III, Kolonne 1), ferner die Unterschiede der k-Werte bei den NaCl-haltigen Lösungen bei Beginn der Versuche, während die k-Werte nach 12 Minuten gleich sind, ferner die große Diffe-

renz der Nitratwirkung in CO_2-haltigem und CO_2-freiem Wasser (bei einer so minimalen Salzkonzentration), so kann man sich des Eindrucks nicht erwehren, daß hier überhaupt keine reine Salzwirkung, sondern einfach eine Irreproduzierbarkeit der Versuche vorliegt. Welche Faktoren diese Differenzen bedingen, ist schwer zu sagen; wir vermuten, daß die ungenügende Definition der $[H^{\cdot}]$ hier eine Rolle spielt. Dies kann es jedoch nicht allein sein, denn so große Unterschiede, wie die beiden Nitratversuche der Tabelle IIIb von W. und St. zeigen, sind nicht einmal durch eine etwas ungenau definierte $[H^{\cdot}]$ erklärbar. Man betrachte ferner die beiden Parallelversuche der Tabelle II von W. und St., um sich ein Bild davon zu machen, wie wenig reproduzierbare Resultate W. und St. erreicht haben. Hätten sie einem dieser beiden Versuche ein Spürchen Salz hinzugefügt, so hätten sie hier zweifellos eine Salzwirkung zu erkennen geglaubt. Von derartigen Irreproduzierbarkeiten sind unsere Versuche aber frei. Die gute Reproduzierbarkeit der Versuche betrachteten wir als so selbstverständliche Vorbedingung, daß wir viel weniger von solchen Doppelversuchen protokolliert haben, als wir hätten tun können. Aber auch so wird man die Überzeugung der guten Reproduzierbarkeit aus unseren zahlreichen, graphisch dargestellten Protokollen leicht gewinnen (vgl. z. B. unsere Fig. 7, Versuch A und B).

Was die theoretische Betrachtung der Katalasewirkung betrifft, so wird sich an anderer Stelle Gelegenheit bieten, darauf einzugehen. Mit diesen Dingen haben wir keine Eile, sondern meinen, daß die Diskussion durch Erwiderungen kaum gefördert werden kann. Wir möchten nur darauf hinweisen, daß unsere Betrachtungen sich Schritt für Schritt und durch vergleichende Untersuchungen vieler Fermente entwickelt haben. Diese Erwiderung soll aber nicht eine Auseinandersetzung aller unserer Meinungsverschiedenheiten sein, sondern sie soll nur das Greifbar-Polemische in der Arbeit von W. und St. in anderer Beleuchtung als der ihrigen erscheinen lassen.

Über die Einwirkung von Stoffwechselendprodukten auf die Pflanzen. I.

Einwirkung N-haltiger pflanzlicher Stoffwechselendprodukte auf die Keimung von Samen. (Alkaloide.)

Von

Wilhelm Sigmund in Prag.

(Aus der k. k. deutschen technischen Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 30. März 1914.)

Über die Einwirkung von Alkaloiden, Glucosiden, Gerbstoffen und ihren Spaltprodukten auf die Keimung von Samen liegen nur vereinzelte und meist ältere Untersuchungen vor[1]), und diese beziehen sich vorwiegend auf Alkaloide; ferner wurde hierbei die Menge der wirksamen Substanz meist nur in Prozenten angegeben. Es erschien mir daher nicht unwichtig, eine größere Zahl der oben genannten Stoffe zur Untersuchung heranzuziehen und dabei äquimolekulare bzw. äquivalente Mengen der wirksamen Substanz anzuwenden. Nur einzelne, in kaltem Wasser sehr schwer lösliche Stoffe mußten in Form ihrer kalt gesättigten Lösungen bzw. in relativ sehr verdünnten Lösungen angewandt werden, da sowohl eine höhere Temperatur als auch ein anderes Lösungsmittel als Wasser ausgeschlossen waren; ferner wurde die wirksame Substanz dort in Prozenten ausgedrückt, wo die Molekulargewichte der zu untersuchenden Stoffe unbekannt oder zweifelhaft waren.

Als Versuchsobjekte dienten: Saatwicke, Vicia sativa L., Erbse, Pisum sativum L., Weizen, Triticum vulgare Vill., Gerste, Hordeum vulgare L., Raps, Brassica Napus oleifera DC., weißer Senf, Sinapis alba L., schwarzer Senf, Brassica nigra Kch., gelbe und blaue Lupinen, Lupinus luteus L. und L. angustifolius L. Die Samen waren von gleichmäßiger Beschaffenheit,

[1]) Lit. bei F. **Czapek**, Biochemie der Pflanzen **2**, 928.

verschrumpfte, verletzte, zu kleine oder auffallend große Samen wurden ausgeschieden; zu jeder Versuchsreihe wurden immer nur Samen derselben Provenienz verwendet.

Als Keimbett dienten mehrfach zusammengelegte Blätter (bei allen Versuchen von gleicher Zahl und Größe) von weißem, hinreichend wasserspeicherndem Filtrierpapier. Zur Quellung und ersten Befeuchtung des Keimbettes wurde immer destilliertes Wasser angewandt; die weitere Befeuchtung erfolgte mit Brunnenwasser, und zwar in jeder Versuchsreihe vollkommen gleichmäßig. Die Quellung der Samen und die Keimung derselben fanden in den ersten acht Versuchstagen bei Lichtabschluß statt, doch so, daß die Luft einigen Zutritt hatte.

Die Quellungsdauer betrug in der Regel 24 Stunden, die zu untersuchende Substanz wirkte fast immer 24 Stunden (selten bis 48 Stunden) auf die Versuchssamen ein; nach Ablauf dieser Zeit wurde die Quellungsflüssigkeit, die mit Ausnahme des Kontrollversuches die wirksame Substanz enthielt, dekantiert (bei allen Versuchen gleichmäßig), das Keimbett mit destilliertem Wasser befeuchtet und die gequellten Samen zur Keimung aufgestellt. In einigen Fällen, insbesondere bei sehr schwer löslichen Stoffen, wurde die Quellungsflüssigkeit nicht dekantiert, sondern mit ihr das Keimbett befeuchtet, so daß die wirksame Substanz dann längere Zeit auf die Samen- bzw. die Keimpflanzen einwirken konnte; dieser Fall ist im Texte speziell angegeben, wo dagegen nichts weiter bemerkt ist, wurde die Quellungsflüssigkeit nach erfolgter Einwirkung immer dekantiert.

Bei Feststellung des Längenwachstums der Wurzeln und Stengel wurden weder die kürzesten noch die längsten als Grenzwerte benützt, sondern Mittelwerte derselben; die Messungsresultate sind in Millimetern ausgedrückt worden; die Keimprozente wurden so lange gezählt, bis sie stationär geworden sind. Die Versuchsdauer betrug durchschnittlich 14 Tage, die Dauer der Vorquellung wurde in die Keimdauer eingerechnet. In jeder Versuchsreihe wurde ein Kontrollversuch mit reinem Wasser allein ausgeführt. Der Versuchsraum war frei von Rauch und schädlichen Dämpfen.

Die Versuchsresultate sind am Schlusse in Tabellen zusammengestellt; im Texte ist fast bei jeder Substanz auf die

Versuchsreihe (römische Ziffer) und die Versuchsnummer (arabische Ziffer) in den Tabellen hingewiesen. Die Wurzeln wurden meist nur in den ersten Versuchstagen, die Stengel dagegen, sobald sie eine meßbare Länge erreicht haben, fast während der ganzen Versuchsdauer gemessen. Die Keimprozente sind in den Tabellen nur so weit eingetragen, als sie noch zugenommen haben. Am letzten Versuchstage wurden dann noch vergleichende Beobachtungen bezüglich der Entwicklung der Wurzeln der Keimpflanzen der in einer Versuchsreihe mit den betreffenden Agenzien behandelten Samen ausgeführt.

Alkaloide.

Alkaloide der Pyridingruppe.

d-Coniin = d-, α-, n-Propylpiperidin, $C_8H_{17}N$.

Die Versuche wurden mit Coniinhydrochlorid $C_8H_{17}N.HCl$ ausgeführt. $^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser (0,065 $^0/_0$) war für Erbsen nur in geringem Grade nachteilig, Weizen und Raps wurden nicht beeinträchtigt, zum Teil sogar in ihrer Entwicklung gefördert (I, 9).

$^1/_{100}$ Mol Coniinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,163 $^0/_0$) und auch noch $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser (0,326 $^0/_0$) haben die Versuchssamen Wicken und Gerste nur unbedeutend benachteiligt (II, 7, 8). Selbst $^1/_{25}$ Mol Coniinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,652 $^0/_0$) hat die Versuchssamen Wicken, Weizen und weißen Senf nur wenig affiziert (III, 4).

Während d-Coniin für Tiere ein sehr starkes Gift ist[1]), erscheint es für Pflanzen, insbesondere für den Keimungsprozeß der Samen selbst in relativ größeren Konzentrationen verhältmäßig wenig nachteilig.

l-Nicotin = 1-Methyl-2-β-Pyridylpyrrolidin, $C_{10}H_{14}N_2$.

Das Nicotin wurde in Form seines Hydrochlorids $C_{10}H_{14}N_2.2HCl$ angewandt. $^1/_{250}$ Mol Nicotinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,094 $^0/_0$) wirkte in dieser Konzentration ungefähr wie Coniinhydrochlorid in äquivalenter Lösung auf dieselben Versuchssamen (Erbsen, Weizen und Raps) ein (I, 8).

$^1/_{100}$ Mol Nicotinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,235 $^0/_0$)

[1]) 1 mg Coniin soll einen Vogel töten; die Maximaldosis beträgt 0,005 g.

schädigte die Wicken sehr, die Wurzeln waren meist verkümmert, 50 % Wicken hatten einen deutlichen, aber in der Entwicklung zurückgebliebenen Stengel; Gerste wurde weniger benachteiligt (II, 9). $^1/_{50}$ Mol Nicotinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,47 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente der Wicken bedeutend herab, die Wurzeln der Keimpflänzchen waren verkümmert, die Stengel in ihrer Entwicklung sehr beeinträchtigt; Gerste wurde weniger geschädigt, Keimungsenergie und Keimprozente wurden nur in relativ geringem Maße vermindert, Wurzeln und Stengel der Keimpflänzchen blieben im Vergleich zum Kontrollversuch in ihrer Entwicklung zurück.

$^1/_{25}$ Mol Nicotinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,94 %) hat die Wickenkeime zum großen Teil getötet, es keimten insgesamt nur 24 % gegen 97 % beim Kontrollversuch, die Keimpflanzen hatten verkümmerte Wurzeln und sehr unentwickelte Stengel. Weizen war widerstandsfähiger, nach 3 Tagen keimten 65 % gegen 95 % beim Kontrollversuch, die Keimprozente stiegen bis 73 %; die Wurzeln waren mehr oder weniger verkümmert, die Stengel dagegen in ihrer Entwicklung weniger geschädigt; auf die weißen Senfsamen wirkte Nicotinhydrochlorid in diesen Konzentrationen fast durchweg tödlich, es keimten nur 9 % und diese verkümmert.

Das Nicotin wirkt mithin in größeren Konzentrationen viel giftiger auf die Keimung der Samen ein als die äquivalenten Lösungen von Coniin.

Piperin und seine Spaltprodukte Piperinsäure und Piperidin.

Piperin = Piperinsäurepiperidid, $C_{17}H_{19}NO_3$.

Piperin konnte nicht in Form eines löslichen Salzes benützt werden, und da es selbst in Wasser schwer löslich ist, so wurde die Wirkung auf die Versuchssamen mit einer kalt gesättigten Lösung untersucht. $^1/_{250}$ Mol Piperin pro 1 l Wasser (0,118 %), bzw. da sich nicht alles löste, eine kalt gesättigte Piperinlösung war für die Versuchssamen Erbsen, Weizen und Raps von geringem Nachteil, nur bei Erbsen wurden die Keimungsenergie und die Keimprozente herabgesetzt und die Entwicklung der Wurzeln und Stengel verzögert, Weizen und Raps wurden wenig beeinflußt (I, 2).

Wurde die Quellungsflüssigkeit nach 24stündiger Einwirkung

nicht dekantiert, sondern damit das Keimbett befeuchtet, so war es insbesondere das Wurzelsystem der Versuchssamen Wicken und Gerste, das stark geschädigt wurde; die Entwicklung der Stengel wurde nur bei Wicken merklich verzögert, bei Gerste war die Verzögerung eine geringe; die Keimprozente wurden nur bei den Wicken vermindert, nicht aber bei der Gerste.

Piperinsäure $C_{12}H_{10}O_8$.

$^1/_{250}$ Mol Piperinsäure pro 1 l Wasser (0,087 $^0/_0$) wirkte, soweit gelöst, ähnlich wie eine kalt gesättigte Piperinlösung auf die nämlichen Versuchssamen (I, 3).

$^1/_{100}$ Mol Piperinsäure pro 1 l Wasser (0,218 $^0/_0$, nicht alles gelöst), setzte die Keimungsenergie sowohl bei Wicken als auch bei Gerste herab, die Entwicklung der Wurzeln und Stengel war bei Wicken mehr, bei Gerste weniger benachteiligt (II, 4). Wurde mit der piperinsäurehaltigen Quellungsflüssigkeit das Keimbett befeuchtet, so war die schädigende Wirkung eine bedeutend stärkere, insbesondere war das Wurzelsystem bei allen Versuchssamen verkümmert, die Stengel sehr zurückgeblieben und schwächlich.

Piperidin $C_5H_{11}N$.

$^1/_{100}$ Mol Piperidin pro 1 l Wasser (0,085 $^0/_0$) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken und wenig beeinflußt, die Entwicklung der Keimpflänzchen war besonders bei den Wicken stark verzögert, bei Gerste war die verzögernde Wirkung eine schwächere (II, 2). $^1/_{50}$ Mol Piperidin pro 1 l Wasser (0,17 $^0/_0$) wirkte ähnlich auf dieselben Versuchssamen, nur war die Verzögerung in der Entwicklung eine größere (II, 3).

$^1/_{50}$ Mol Piperidinhydrochlorid $C_5H_{11}N.HCl$ pro 1 l Wasser (0,243 $^0/_0$) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken und Weizen nicht beeinträchtigt, beim weißen Senf aber etwas herabgesetzt; in der weiteren Entwicklung trat besonders bei den Wicken eine starke Verzögerung ein, bei Weizen und weißem Senf weniger (III, 2). Durch $^1/_{25}$ Mol Piperidinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,486 $^0/_0$) wurde die schädigende Wirkung auf die genannten Samen etwas erhöht (III, 3).

Die gleichzeitige Einwirkung der beiden Spaltprodukte des Piperins, nämlich des Piperidins und der Piperinsäure in äqui-

molekularen Mengen, und zwar je $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser, wodurch die Löslichkeit der Piperinsäure erhöht wurde, bewirkte eine weit intensivere Schädigung der Versuchssamen Wicken und Gerste, als jede der Komponenten Piperidin und Piperinsäure für sich (II, 2, 3, 4). Bei Wicken wurden die Keimprozente nur unbedeutend herabgesetzt, dagegen wurde die Entwicklung der Wurzeln und Stengel in hohem Maße geschädigt, bei Gerste wurden außerdem auch die Keimprozente wesentlich erniedrigt, nämlich auf 9 % gegen 89 % beim Kontrollversuch (II, 5). Eine noch größere Schädigung derselben Versuchssamen bewirkte die gleichzeitige Einwirkung von $^1/_{50}$ Mol Piperidin und $^1/_{100}$ Mol Piperinsäure pro 1 l Wasser (II, 6).

Alkaloide der Pyrrolidin- und Pyrrolingruppe und Verwandte.

Atropin und seine Spaltprodukte: Tropin, Tropasäure und Atropasäure.

Atropin = r-Tropasäure-i-Tropinester, $C_{17}H_{23}NO_3$.

Wurde meist als Atropinsulfat $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 . H_2SO_4 + H_2O$, seltener als freies Atropin verwendet.

$^1/_{250}$ Mol Atropinsulfat pro 1 l Wasser verzögerte das Wachstum der Wicken; Weizen und Raps dagegen wurden nicht beeinträchtigt. $^1/_{100}$ Mol Atropinsulfat bewirkte eine Verzögerung im Wachstum der Wicken, die Entwicklung der Gerste wurde etwas weniger verzögert (V, 3). Ähnlich wirkte $^1/_{100}$ Mol Atropin pro 1 l Wasser bzw. eine kalt gesättigte Atropinlösung auf dieselben Versuchssamen ein (V, 4).

$^1/_{50}$ Mol Atropinsulfat pro 1 l Wasser verzögerte die Entwicklung der Wicken und weißen Senfsamen, für Weizen weniger nachteilig (VI, 2). $^1/_{25}$ Mol Atropinsulfat pro 1 l Wasser schädigte Wicken und weißen Senf sehr, Weizen wurde weniger affiziert (III, 6).

Tropin $C_8H_{15}NO$.

$^1/_{100}$ Mol Tropin pro 1 l Wasser hat die Versuchssamen Wicken und Gerste nicht beeinträchtigt, der Keimungsprozeß verlief nahezu normal (V, 4). Bei 48 stündiger Einwirkungsdauer einer gleich konzentrierten Tropinlösung auf Wicken, Weizen und weißen Senf wurde insbesondere der Keimungsprozeß beim weißen Senf verzögert, bei Wicken weniger, bei Weizen fast gar nicht (VII, 3).

$^1/_{25}$ Mol Tropin pro 1 l Wasser (0,562 $^0/_0$) schädigte namentlich die Wicken und weißen Senfsamen sowohl in den Keimprozenten als auch in der weiteren Entwicklung der Keimpflänzchen; Weizen erwies sich als wesentlich widerstandsfähiger (III, 7).

Im allgemeinen war Tropin weniger giftig für die Keimung der Versuchssamen als Atropin in äquivalenter Lösung.

Tropasäure $C_9H_{10}O_3$, α-Phenyloxypropionsäure $CH_2OH.CH(C_6H_5).COOH$.

$^1/_{250}$ Mol Tropasäure pro 1 l Wasser (0,066 $^0/_0$) hat die Keimprozente der Versuchssamen nicht wesentlich benachteiligt in der weiteren Entwicklung wurden Wicken und Raps verzögert, Weizen nicht (IV, 5).

$^1/_{100}$ Mol Tropasäure pro 1 l Wasser (0,166 $^0/_0$) war für Wicken äußerst giftig, die Keimungsenergie wurde wesentlich herabgesetzt, sämtliche Keimpflanzen verkümmerten sowohl in bezug auf die Wurzelbildung als auch auf die Entwicklung der Stengel; Gerste dagegen wurde in den Keimprozenten gar nicht beeinflußt und im Wachstum der Wurzeln und Stengel verhältnismäßig wenig verzögert (V, 5).

$^1/_{50}$ Mol Tropasäure pro 1 l Wasser (0,332 $^0/_0$) war für Wicken und weißen Senf fast durchweg tödlich, es keimten insgesamt nur 4 $^0/_0$ Wicken und 2 $^0/_0$ weiße Senfsamen, und diese blieben verkümmert (beim Kontrollversuch keimten 93 $^0/_0$ Wicken und 93 $^0/_0$ weiße Senfsamen); Weizen wurde relativ weniger geschädigt; es wurden mehr die Keimungsenergie als die Keimprozente vermindert, die Keimpflanzen blieben in ihrer Entwicklung zurück (VI, 4).

$^1/_{25}$ Mol Tropasäure pro 1 l Wasser (0,664 $^0/_0$) tötete die Keime der Wicken und weißen Senfsamen; Weizen wurde sehr geschädigt, es keimten insgesamt 18 $^0/_0$ gegen 96 $^0/_0$ normal, die Keimpflanzen hatten mehr oder weniger verkümmerte Wurzeln und im Wachstum sehr zurückgebliebene Stengel (III, 8).

Atropasäure $C_9H_8O_2$, α-Phenylakrylsäure $CH_2{=}C(C_6H_5){-}COOH$.

$^1/_{100}$ Mol Atropasäure pro 1 l Wasser bzw. eine kalt gesättigte Lösung entsprechend rund $^1/_{111}$ Mol Atropasäure pro 1 l Wasser, enthaltend 0,133 $^0/_0$ Atropasäure, tötete die Versuchssamen Wicken und Gerste (V, 6).

Ein Vergleich in den Giftwirkungen des Atropins und seiner Spaltprodukte ergibt, daß bei größerer Verdünnung äquivalenter Lösungen zwischen den Wirkungen des Atropins, Tropins und der Tropasäure auf die Keimung kein wesentlicher Unterschied besteht, in größeren Konzentrationen aber ist das Tropin weniger giftig als Atropin in äquivalenter Menge, die Tropasäure dagegen giftiger; als das giftigste Spaltprodukt des Atropins erwies sich die Atropasäure.

Es wurden sodann die Spaltprodukte des Atropins gleichzeitig in äquimolekularen Mengen auf die Samen einwirken gelassen, und zwar $^1/_{100}$ Mol Tropin + $^1/_{100}$ Mol Tropasäure pro 1 l Wasser und $^1/_{100}$ Mol Tropin + $^1/_{100}$ Mol Atropasäure pro 1 l Wasser.

Die gleichzeitige Einwirkung von Tropin und Tropasäure auf Wicken ergab, daß die schädliche Wirkung der Tropasäure durch die Gegenwart des Tropins wesentlich herabgesetzt wurde; während nämlich $^1/_{100}$ Mol Tropasäure (pro 1 l Wasser) allein die Keimprozente und den weiteren Verlauf des Keimungsprozesses in hohem Grade schädigte, während ferner $^1/_{100}$ Mol Tropin allein den Keimungsprozeß fast gar nicht benachteiligte, verlief die Keimung bei gleichzeitiger Gegenwart beider beinahe so wie bei Tropin allein (V, 7).

Auch auf die noch giftigere und direkt keimtötende Atropasäure hat die gleichzeitige Gegenwart von Tropin günstig eingewirkt. Während $^1/_{100}$ bzw. $^1/_{111}$ Mol Atropasäure pro 1 l Wasser die Keimung sämtlicher Wicken und Gerste im Verlauf der ganzen Versuchsdauer verhinderte, keimten bei gleichzeitiger Einwirkung von Tropin und Atropasäure am 3. Versuchstage 30 % Wicken und 65 % Gerste, am 4. Versuchstage 74 % Wicken und 75 % Gerste, am 6. Tage 84 % Wicken und 81 % Gerste, am 7. Tage 87 % Wicken und 82 % Gerste; wenn auch die weitere Entwicklung der Keimpflanzen gegenüber dem Kontrollversuch verzögert erschien, so konnte doch eine deutlich entgiftende Wirkung des Tropins auf die Atropasäure konstatiert werden (V, 8).

Hyoscyamin = l-Tropasäure-i-Tropinester, $C_{17}H_{23}NO_3$.

Das mit Atropin isomere Hyoscyamin wurde als Hydrobromid $C_{17}H_{23}NO_3 . HBr$ angewandt.

$^1/_{100}$ Mol Hyoscyaminhydrobromid pro 1 l Wasser (0,37 %) verzögerte den Keimungsprozeß der Versuchssamen, Wicken wurden mehr, Gerste weniger beeinflußt (V, 9). $^1/_{50}$ Mol Hyoscyaminhydrobromid (0,74 %) wirkte verzögernd auf die Entwicklung von Wicken, Weizen und weißen Senf. Keimungsenergie und Keimprozente wurden nicht wesentlich benachteiligt (VI, 5).

$^1/_{25}$ Mol Hyoscyaminhydrobromid pro 1 l Wasser (1,48 %) war besonders für Wicken und weißen Senf schädlich, weniger für Weizen (III, 9).

Im allgemeinen wirkte Hyoscyaminhydromid auf die Keimung der Versuchssamen ähnlich ein wie die äquivalenten Mengen von Atropinsulfat.

Pilocarpin $C_{11}H_{16}N_2O_2$.

Wurde als Hydrochlorid $C_{11}H_{16}N_2O_2.HCl$ verwendet.

$^1/_{250}$ Mol Pilocarpinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,098 %) verzögerte das Wachstum der Erbsen, für Weizen und Raps ohne wesentlichen Nachteil, nur das Wurzelsystem war etwas schwächer als beim Kontrollversuch (I, 4).

$^1/_{100}$ Mol Pilocarpinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,244 %) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken und Weizen nicht wesentlich beeinflußt, dagegen wurde die Entwicklung der Wurzeln und Stengel benachteiligt, und zwar bei Wicken mehr als bei Weizen. Ähnlich wirkte $^1/_{50}$ Mol Pilocarpinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,488 %). Auch $^1/_{25}$ Mol Pilocarpinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,976 %) war ohne wesentlichen Einfluß auf die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken, Weizen und Raps, in der weiteren Entwicklung blieben nur die Wicken auffallend zurück, weniger Weizen und Raps (VIII, 2).

Versuche mit Tieren ergaben, daß Pilocarpin und Atropin physiologische Antagonisten sind, eine kleine Dosis Atropin hebt die Wirkung großer Mengen Pilocarpins auf. Es wurde nun untersucht, ob sich diese Beziehung nicht auch bei der Einwirkung der beiden Alkaloide auf die Keimung von Samen ergeben würde. Zu diesem Behufe ließ ich $^1/_{25}$ Mol Pilocarpinhydrochlorid, $^1/_{500}$ Mol Atropinsulfat und $^1/_{500}$ Mol Atropin je pro 1 l Wasser für sich, ferner gleichzeitig $^1/_{25}$ Mol Pilocarpinhydrochlorid + $^1/_{500}$ Mol Atropinsulfat und $^1/_{25}$ Mol Pilocarpin-

hydrochlorid + $^1/_{500}$ Mol Atropin pro 1 l Wasser auf Wicken, Weizen und Raps einwirken. Wie aus der Versuchsreihe 8 ersichtlich, hat Atropin keine entgiftende Wirkung auf Pilocarpin ausgeübt.

Cocain und seine Spaltprodukte Benzoylekgonin und Ekgonin.

Cocain = Benzoylekgoninmethylester, $C_{17}H_{21}NO_4$.

l-Cocain kam als Hydrochlorid $C_{17}H_{21}NO_4 . HCl$ zur Verwendung.

$^1/_{250}$ Mol Cocainhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,136 %) war für die Versuchssamen Erbsen, Weizen und Raps, bis auf eine Herabsetzung der Keimungsenergie, insbesondere bei Erbsen, ohne Nachteil (I, 5). $^1/_{100}$ Mol Cocainhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,339 %) verzögerte den Keimungsprozeß namentlich der Wicken, weniger bei Gerste (V, 10).

$^1/_{50}$ Mol Cocainhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,678 %) hat die Versuchssamen Wicken, Weizen und weißen Senf in bezug auf die Keimprozente nicht wesentlich beeinflußt, dagegen wurden die Keimungsenergie und die Entwicklung der Keimlinge etwas geschädigt (VI, 6). Dieselbe Konzentration bei 48stündiger Einwirkungsdauer hat bei Weizen und insbesondere bei weißem Senf auch die Keimprozente herabgedrückt und die Entwicklung der Wurzeln und Stengel noch mehr benachteiligt (VII, 6).

$^1/_{25}$ Mol Cocainhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,356 %) war für Wicken äußerst schädlich, die Keimpflänzchen gingen alsbald ein; auch der Keimungsprozeß der weißen Senfsamen wurde wesentlich verzögert; relativ am wenigsten wurde Weizen benachteiligt (III, 10).

Benzoylekgonin $C_{16}H_{19}NO_4$.

$^1/_{250}$ Mol Benzoylekgonin pro 1 l Wasser (0,119 %). Bis auf eine teilweise Herabsetzung der Keimungsenergie verlief die Keimung der Erbsen-, Weizen- und Rapssamen nahezu normal (I, 7).

$^1/_{100}$ Mol Benzoylekgonin pro 1 l Wasser (0,289 %) hat den Keimungsprozeß der Wicken ein wenig benachteiligt, für Gerste ohne besonderen Nachteil (V, 11).

$^1/_{50}$ Mol Benzoylekgonin (0,578 %) verzögerte etwas die Entwicklung der Wicken; Senf und Weizen wurden wenig be-

einflußt (VI, 8). Dieselbe Konzentration bei 48stündiger Einwirkungsdauer auf dieselben Versuchssamen wirkte nur wenig ungünstiger (VII, 8).

$^1/_{25}$ Mol Benzoylekgonin pro 1 l Wasser (1,156 %) wirkte ähnlich wie $^1/_{50}$ Mol auf dieselben Versuchssamen, nur war die verzögernde Wirkung im Wachstum ein wenig größer (III, 11).

Ekgonin = 3-Oxytropan-2-Carbonsäure, $C_9H_{15}NO_3$.

Das l-Ekgonin $C_9H_{15}NO_3 + H_2O$ wirkte im allgemeinen auf die nämlichen Versuchssamen ähnlich wie Benzoylekgonin in äquimolekularer Lösung, wie aus den entsprechenden Versuchsreihen in den Tabellen ersichtlich ist (s. unten). Durchschnittlich war Ekgonin minder schädlich als Benzoylekgonin, so daß die Keimungsprozesse selbst bei Anwendung konzentrierterer Ekgoninlösungen nahezu normal verliefen.

$^1/_{250}$ Mol Ekgonin pro 1 l Wasser (0,081 %): I, 6,
$^1/_{100}$ „ „ „ 1 l „ (0,203 %): V, 12,
$^1/_{50}$ „ „ „ 1 l „ (0,406 %): VI, 7 und VII, 7,
$^1/_{25}$ „ „ „ 1 l „ (0,812 %): III, 12.

Im allgemeinen erscheint Cocain für die Keimung von Samen giftiger als seine Spaltprodukte Benzoylekgonin und insbesondere Ekgonin in äquimolekularen Lösungen.

Lupinin $C_{21}H_{40}N_2O_2$.

$^1/_{250}$ Mol Lupinin pro 1 l Wasser (0,14 %) übte auf Wicken, Weizen, Raps und gelbe Lupinen keine nachteilige Wirkung aus (IV, 2).

Auffallend war die Erhöhung der Keimungsenergie bei gelben Lupinen von geringem Keimvermögen;

Versuchstag	3	5	6	7	9
			Keimprozente:		
1. Wasser	3	6	7	9	20
2. Lupinin $^1/_{250}$ Mol	4	14	17	22	24

Auch bei blauen Lupinen bewirkte Lupinin eine Erhöhung der Keimungsenergie (XI, 2, 3).

$^1/_{100}$ Mol Lupinin pro 1 l Wasser (0,352 %) setzte die Keimprozente der Wicken etwas herab und verzögerte die Entwicklung der Wurzeln und Stengel; Weizen wurde etwas weniger benachteiligt (IX, 2).

Lupinidin $C_{15}H_{26}N_2$.

Wurde in Form seines sauren Sulfats (Merck) $C_{15}H_{26}N_2 . H_2SO_4$ benutzt.

$^1/_{250}$ Mol Lupinidinsulfat pro 1 l Wasser (0,133 %) war für Wicken, Weizen und Raps ohne wesentlichen Nachteil (IV, 3).

$^1/_{100}$ Mol Lupinidinsulfat pro 1 l Wasser (0,332 %) hat die Versuchssamen Wicken und Raps in geringem Maße benachteiligt (X, 2). $^1/_{50}$ Mol Lupinidinsulfat pro 1 l Wasser (0,664 %) hat dieselben Samen ähnlich, aber etwas stärker affiziert (X, 3).

Lupinidinsulfat hat in einer Konzentration von $^1/_{200}$ Mol pro 1 l Wasser die Keimungsenergie der blauen Lupinen erhöht (XI, 4).

Spartein $C_{15}H_{26}N_2$.

Spartein, das ebenso zusammengesetzt ist wie Lupinidin, wurde als „Spartein sulfuricum cryst. Merck" angewandt; es wirkte auf Wicken und Raps ähnlich wie Lupinidinsulfat in äquivalenter Lösung (X, 4, 5).

Auch Sparteinsulfat bewirkte in einer Konzentration von $^1/_{200}$ Mol pro 1 l Wasser eine Erhöhung der Keimungsenergie der blauen Lupinen (XI, 5), in einer Konzentration von $^1/_{25}$ Mol pro 1 l Wasser dagegen verminderte es wesentlich die Keimungsenergie und die Keimprozente derselben (XI, 6).

Cytisin $C_{11}H_{14}N_2O$.

Wurde in Form seines Hydrochlorids $C_{11}H_{14}N_2O . 2HCl + 3H_2O$ verwendet.

$^1/_{100}$ Mol Cytisinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,245 %) hat den Keimungsprozeß bei Wicken und Weizen etwas verzögert (IX, 3); $^1/_{50}$ Mol Cytisinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,49 %) bewirkte bei denselben Samen eine geringe Zunahme der Verzögerung (IX, 4).

Alkaloide der Chinolingruppe.

Cinchonin $C_{19}H_{22}N_2O$.

Zur Verwendung gelangte das neutrale Sulfat $(C_{19}H_{22}N_2O)_2 . H_2SO_4 + 2H_2O$.

$^1/_{50}$ Mol Cinchoninsulfat pro 1 l Wasser (0,722 %) setzte bei Wicken sowohl die Keimungsenergie als auch die Keimprozente herab; es keimten insgesamt 41 % gegen 94 % normal,

die Entwicklung der Wurzeln und Stengeln blieb vom 5. Versuchstage ab stationär. Bei Weizen betrugen die Keimprozente im ganzen 63 % gegen 94 % beim Kontrollversuch, in der weiteren Entwicklung waren die Wurzeln mehr oder weniger verkümmert und der Stengelwuchs wesentlich verzögert. Die Keimlinge der weißen Senfsamen wurden sämtlich getötet (XIV, 2).

$^1/_{25}$ Mol Cinchoninsulfat pro 1 l Wasser (1,444 %) hat den Keimungsprozeß noch mehr geschädigt; es keimten insgesamt 20 % Wicken durchweg verkümmert, 58 % Weizen mit verkümmerten Wurzeln und stark retardierten Stengeln. Die Senfsamen gelangten überhaupt nicht zur Keimung (XIV, 3).

Cinchonidin $C_{19}H_{22}N_2O$.

Das dem Cinchonin stereoisomere Cinchonidin wurde als Hydrochlorid $C_{19}H_{22}N_2O.HCl + H_2O$ verwendet.

$^1/_{50}$ Mol Cinchonidinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,697 %) wirkte auf dieselben Versuchssamen etwas weniger schädlich als die äquivalente Menge von Cinchoninsulfat. Es keimten im ganzen 58 % Wicken verkümmert und 74 % Weizen mit verkümmerten Wurzeln, die Entwicklung der Stengel war relativ besser als bei Cinchonin. Die weißen Senfsamen keimten auch hier nicht (XIV, 6).

$^1/_{25}$ Mol Cinchonidinhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,394 %) setzte die Keimprozente bei Wicken auf 14, bei Weizen auf 63 herab; die Wurzeln waren durchweg verkümmert, das Wachstum der Stengel sehr zurückgeblieben, insbesondere bei Wicken. Der weiße Senf keimte nicht (XIV, 7).

Chinin = p-Methoxycinchonin, $C_{20}H_{24}N_2O_2$.

Kam als Hydrochlorid $C_{20}H_{24}N_2O_2.HCl + 3H_2O$ zur Verwendung.

$^1/_{50}$ Mol Chininhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,829 %). Die Keimprozente der Wicken sanken auf 25 % gegen 94 % normal, die gekeimten Wicken verkümmerten alsbald; bei Weizen betrugen die Keimprozente 61 gegen 94 normal, die sich entwickelnden Keimpflänzchen hatten verkümmerte Wurzeln, während die Stengel im Wachstum sehr zurückblieben. Die weißen Senfsamen keimten überhaupt nicht (XIV, 2).

$^1/_{25}$ Mol Chininhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,658 %) setzte

die Keimprozente der Wicken auf 12 herab, wobei der Keimungsprozeß in kurzer Zeit stationär blieb. Von Weizen keimten 48 %, die Wurzeln waren alle verkümmert, die Stengel in ihrer Entwicklung sehr geschädigt. Das Keimen der weißen Senfsamen wurde verhindert (XIV, 3).

Ein Vergleich der Giftwirkung des Cinchonins, Cinchonidins und Chinins ergibt, daß für die Keimung der Wicken Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol relativ am wenigsten giftig war, dann folgen mit zunehmender Giftwirkung Cinchoninsulfat $^1/_{50}$, Chininhydrochlorid $^1/_{50}$, Cinchoninsulfat $^1/_{25}$, Chininhydrochlorid $^1/_{25}$ und Cinchoninhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol. Für die Keimung von Weizen war wieder Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol am wenigsten giftig, dann folgen Cinchoninsulfat $^1/_{50}$, Chininhydrochlorid $^1/_{50}$, Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$, Cinchoninsulfat $^1/_{25}$ und Chininhydrochlorid $^1/_{25}$. Für Tiere ist Cinchonin giftiger als Cinchonidin; dies scheint für die Pflanzen bzw. für die Keimung von Samen auch zuzutreffen.

Alkaloide der Isochinolingruppe.

Morphin $C_{17}H_{19}NO_3 + H_2O$.

Wurde in Form seines Hydrochlorids $C_{17}H_{19}NO_3 . HCl + 3 H_2O$ benutzt.

$^1/_{132}$ Mol Morphinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,284 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Erbsen, Weizen und Raps etwas herab; in der weiteren Entwicklung wurden die Erbsen am meisten, weniger Raps und relativ am wenigsten Weizen geschädigt.

$^1/_{50}$ Mol Morphinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,75 %) schädigte durchweg die Versuchssamen Wicken, Weizen und weißen Senf. Am meisten wurden die Wicken und die weißen Senfsamen beeinflußt, die mehr oder weniger verkümmerten, bei Weizen waren die Wurzeln verkümmert, die Entwicklung der Stengel verzögert (XII, 2). $^1/_{25}$ Mol Morphinhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,5 %) wirkte ähnlich, aber noch etwas giftiger auf dieselben Versuchssamen ein (XIII, 2).

Narkotin $C_{22}H_{23}NO_7$.

Kam als Hydrochlorid $C_{22}H_{23}NO_7 . HCl$ zur Verwendung. $^1/_{50}$ Mol Narkotinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,9 %) war

sehr schädlich für die weißen Senfsamen und Wicken; Weizen wurde weniger affiziert (XII, 3). $^1/_{25}$ Mol Narkotinhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,8 %) war insbesondere für die weißen Senfsamen sehr giftig, aber auch Wicken und Weizen wurden sehr geschädigt (XIII, 3).

Für die Keimung von Wicken und Weizen war Narkotinhydrochlorid etwas minder giftig als die äquimolekulare Morphinhydrochloridlösung, für die weißen Senfsamen dagegen nicht.

Berberin $C_{20}H_{17}NO_4$.

Wurde in Form seines Hydrochlorids $C_{20}H_{17}NO_4 . HCl + 4 H_2O$ angewandt.

Berberin erwies sich als ein heftiges Gift für den Keimling, bereits $^1/_{222}$ Mol Berberinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,2 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente bei den Versuchssamen Erbsen, Weizen und Raps wesentlich herab; Erbsen und Raps stellten ihr Wachstum alsbald ein und verkümmerten, die Weizenkeimlinge entwickelten sich zwar weiter, doch blieb ihr Wachstum gegen den Kontrollversuch sehr zurück.

Eine 0,2 %ige Tanninlösung wirkte teilweise entgiftend ein, indem die mit Tannin behandelten Samen (Erbsen, Weizen und Raps) durch das Berberin (0,2 %) auch geschädigt wurden, doch waren sowohl die Keimprozente größer als auch die Entwicklung der Keimlinge günstiger als bei den mit gleichviel Berberin allein behandelten Samen.

$^1/_{50}$ Mol Berberinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,887 %) bzw. eine kalt gesättigte Lösung, da sich nicht alles löste, schädigte die Versuchssamen Wicken, Weizen und weißen Senf in hohem Grade sowohl in den Keimprozenten (insbesondere bei Senf) als auch in der weiteren Entwicklung; die Wurzeln waren verkümmert, zur Stengelbildung kam es bei Wicken und Senf überhaupt nicht, die Weizenstengel blieben in ihrem Wachstum sehr zurück (XII, 4).

Alkaloide der Chinolin-Dibenzopyrrolgruppe.

Strychnin $C_{21}H_{22}N_2O_2$.

Zur Verwendung kam das Nitrat $C_{21}H_{22}N_2O_2 . HNO_3$.

$^1/_{165}$ Mol Strychninnitrat pro 1 l Wasser (0,24 %) setzte die Keimungsenergie der Erbsen- und Rapssamen herab, bei Weizen

wurde sie nicht beeinflußt; die Entwicklung der Keimpflänzchen war nur in geringem Grade verzögert.

$^1/_{50}$ Mol Strychninnitrat pro 1 l Wasser (0,794 $^0/_0$) verminderte die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Weizen und weißer Senf; der Keimungsprozeß wurde sehr geschädigt, die Wurzeln waren durchweg verkümmert, die Stengel, insbesondere bei Wicken und Senf, im Wachstum zurückgeblieben, bei Weizen war die Verzögerung eine relativ geringe (XII, 5).

Ähnlich, aber stärker schädigend wirkte $^1/_{25}$ Mol Strychninnitrat pro 1 l Wasser (1,588 $^0/_0$) auf dieselben Versuchssamen ein (XIII, 4).

Strychnin ist bekanntlich für Tiere ein sehr heftiges Gift; die niedrigste tödliche Dosis beim erwachsenen Menschen beträgt 0,015 bis 0,03 g Strychninsulfat, für Pflanzen, speziell für die Keimung von Samen, ist es relativ weniger giftig, indem kleine Gaben den Keimungsprozeß nur wenig benachteiligen und erst verhältnismäßig größere Mengen die Keimung wesentlich schädigten.

Brucin $C_{23}H_{26}N_2O_4$.

Wurde als Hydrochlorid $C_{23}H_{26}N_2O_4 . HCl$ verwendet.

$^1/_{50}$ Mol Brucinhydrochlorid pro 1 l Wasser (0,861 $^0/_0$) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Weizen und Senf (weiß) wenig beeinflußt, dagegen die Entwicklung der Wurzeln und Stengel benachteiligt (XII, 6).

$^1/_{25}$ Mol Brucinhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,722 $^0/_0$) verminderte die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken, Weizen und weißem Senf und schädigte die weitere Entwicklung der Keimpflanzen (XIII, 5).

Im Vergleich zu einer äquivalenten Menge Strychnin war Brucin für die Keimung von Samen weniger schädlich; dies würde mit den bei Tierversuchen gemachten Beobachtungen übereinstimmen, denn auch für Tiere ist Brucin ein schwächeres Gift als Strychnin.

Alkaloide von unbekannter Konstitution.

Aconitin $C_{34}H_{47}NO_{11}$.

Kam als Hydrochlorid $C_{34}H_{47}NO_{11} . HCl + 3 H_2O$ zur Verwendung.

$^1/_{50}$ Mol Aconitinhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,473 $^0/_0$) hat die Keimprozente bei Wicken, Weizen und weißem Senf wenig beeinflußt, die Entwicklung der Wurzeln und Stengel wurde insbesondere bei Wicken und weißem Senf benachteiligt, bei Weizen unbedeutend (XII, 7).

Veratrin $C_{32}H_{49}NO_9$.

Es kam als Hydrochlorid $C_{32}H_{49}NO_9.HCl$ zur Anwendung.

$^1/_{50}$ Mol Veratrinhydrochlorid pro 1 l Wasser (1,255 $^0/_0$) wirkte im allgemeinen in ähnlicher Weise auf dieselben Versuchssamen Wicken, Weizen und Senf wie eine äquivalente Lösung von Aconitin, doch war die Schädigung bei Veratrin eine etwas stärkere (XII, 8).

Auch für Tiere ist Veratrin etwas giftiger als Aconitin. Während aber beide für Tiere äußerst giftig sind (so erzeugt z. B. 1 mg Veratrin, einem Frosch injiziert, Lähmung, 10 mg erzeugen den Tod), sind die genannten Alkaloide für Pflanzen, insbesondere für die Keimung von Samen selbst, in relativ größerer Konzentration verhältnismäßig wenig giftig.

Glucoalkaloide.

Solanin.

Solanin und sein Spaltprodukt Solanidin wurden wegen ihrer geringen Löslichkeit in Wasser in Form ihrer kalt gesättigten Lösungen auf die Versuchssamen einwirken gelassen.

Es wurden je 0,04 g Solanin bzw. Solanidin zu 100 ccm Quellungsflüssigkeit hinzugefügt, wobei sich aber nicht alles gelöst hat. Sowohl Solanin als auch Solanidin beeinflußten die Versuchssamen Wicken und Gerste nur wenig. Wurde das Keimbett mit den solanin- bzw. solanidinhaltigen Lösungen befeuchtet, so ergab sich eine etwas stärkere Schädigung derselben Versuchssamen (XV, 2, 3, 4, 5).

Es wurden sodann unter Zugrundelegung der Formel $C_{48}H_{71}NO_{16}$ für Solanin und $C_{25}H_{41}NO$ für Solanidin Quellungsflüssigkeiten mit je $^1/_{1000}$ Mol pro 1 l Wasser hergestellt (es hat sich aber nicht alles gelöst), und diese wirkten ausnahmsweise 48 Stunden auf die Versuchssamen Wicken, Weizen und weißen Senf ein; nach Ablauf dieser Zeit wurden die Quellungsflüssigkeiten dekantiert und das Keimbett wieder wie gewöhnlich mit

destilliertem Wasser befeuchtet. Bei dieser Versuchsanordnung wurden die Keimungsenergie und die Keimprozente nicht wesentlich beeinflußt, dagegen wurde die Entwicklung der Wurzeln und Stengel benachteiligt, und zwar durch Solanin etwas mehr als durch sein Spaltprodukt Solanidin (XII, 9, 10).

Zusammenfassung der Resultate.

Alkaloide.

Coniin ist für die Keimung von Samen verhältnismäßig wenig nachteilig.

Nicotin wirkt in verdünnten Lösungen bis $^1/_{250}$ Mol Nicotinhydrochlorid pro 1 l Wasser dem Coniinhydrochlorid in äquimolekularer Menge ungefähr gleich; in größeren Konzentrationen: $^1/_{100}$, $^1/_{50}$ und $^1/_{25}$ Mol pro 1 l Wasser wirkt es dagegen viel giftiger auf die Keimung ein als die äquivalenten Lösungen von Coniinhydrochlorid.

Piperin und Piperinsäure sind, soweit in kaltem Wasser löslich, bis $^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser für die Keimung giftiger als Coniin und Nicotin in äquivalenter Menge; Piperidin war selbst bis $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser relativ weniger giftig. Die gleichzeitige Einwirkung der beiden Spaltprodukte des Piperins, des Piperidins und der Piperinsäure in äquimolekularen Mengen hat die Giftwirkung beider wesentlich erhöht.

Atropin ist bis $^1/_{100}$ Mol Atropinsulfat pro 1 l Wasser wenig giftig, erst Konzentrationen von $^1/_{50}$ und $^1/_{25}$ Mol pro 1 l Wasser bewirkten eine intensivere Schädigung des Keimungsprozesses. Von den Spaltprodukten des Atropins wirkte Tropin weniger, Tropasäure stärker toxisch auf die Keimung ein als Atropin selbst, das giftigste Spaltprodukt des Atropins ist aber die Atropasäure. Bei gleichzeitiger Einwirkung der Spaltprodukte in äquimolekularen Mengen wirkte Tropin mehr oder weniger entgiftend sowohl auf die Tropasäure als auch auf die noch giftigere Atropasäure ein.

Hyoscyamin wirkte in äquivalenten Mengen ungefähr so, wie das isomere Atropin.

Pilocarpin ist relativ wenig giftig; kleine Mengen von Atropin heben die Wirkung größerer Mengen Pilocarpins auf die Keimung nicht auf, wie dies bei Versuchen mit Tieren beobachtet wurde.

Cocain ist bis $^1/_{100}$ und selbst bis $^1/_{50}$ Mol Cocainhydrochlorid pro 1 l Wasser wenig giftig, erst $^1/_{25}$ Mol zeigte eine intensivere Giftwirkung; im Vergleich zu seinen Spaltprodukten wirkte Cocain toxischer als Benzoylekgonin und insbesondere als Ekgonin auf die Keimung ein.

Lupinin, Lupinidin und das dem letzteren isomere Spartein sind bis $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser wenig giftig für den Keimling. In einer Konzentration von $^1/_{200}$ bis $^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser erhöhten sie die Keimungsenergie von gelben und von blauen Lupinen.

Cytisin ist noch in einer Konzentration von $^1/_{50}$ Mol Cytisinhydrochlorid pro 1 l Wasser für die Keimung wenig nachteilig.

Cinchonin, Cinchonidin und Chinin wirkten als $^1/_{50}$ und $^1/_{25}$ Mol Cinchoninsulfat, Cinchonidinsulfat bzw. Chininhydrochlorid pro 1 l Wasser stark toxisch auf die Keimlinge ein; relativ am giftigsten war Chinin, weniger giftig Cinchonin und verhältnismäßig am wenigsten Cinchonidin.

Morphin und Narkotin schädigten in Form ihrer Hydrochloride in einer Konzentration von $^1/_{50}$ und noch mehr von $^1/_{25}$ Mol pro 1 l Wasser die Keimung sehr; Narkotin war in äquivalenten Mengen etwas weniger giftig als Morphin.

Berberin ist als Hydrochlorid ein heftiges Gift für den Keimling, bereits $^1/_{222}$ Mol pro 1 l Wasser übte stark toxische Wirkungen aus; eine $0{,}2\,^0/_0$ige Tanninlösung wirkte teilweise entgiftend.

Strychnin ist in verdünnten Lösungen $^1/_{165}$ Mol Strychninnitrat pro 1 l Wasser für die Keimung von geringem Nachteil, erst $^1/_{50}$ und noch mehr $^1/_{25}$ Mol Strychninnitrat pro 1 l Wasser wirken giftiger. Brucin war als Hydrochlorid in äquivalenten Mengen für den Keimling weniger giftig als Strychninnitrat.

Aconitin erwies sich selbst in einer Konzentration von $^1/_{50}$ Mol Aconitinhydrochlorid von geringer Giftwirkung auf den Keimungsprozeß. Veratrin als Hydrochlorid hat in äquivalenter Menge die Versuchssamen in ähnlicher Weise, aber etwas stärker beeinflußt.

Glucoalkaloide.

Solanin und sein Spaltprodukt Solanidin sind, soweit in kaltem Wasser löslich, für die Keimung von geringer Giftigkeit.

Tabellen.

(W bedeutet Wurzel, S Stengel, Sp Spuren, v verkümmert.)
Die Messungsresultate sind in Millimetern ausgedrückt.

I. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 17. II. bis 8. III.
Zimmertemperatur: 7 bis 15 ° R.

$^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Erbsen	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	67	W 3–20	79	W 4–12	83	—
2. Piperin	46	3–19	77	2–9	82	—
3. Piperinsäure . . .	31	3–16	78	2–7	79	—
4. Pilocarpinhydrochlorid	53	3–18	76	2–8	82	—
5. Cocainhydrochlorid	33	3–16	76	3–11	79	—
6. Ekgonin	47	3–19	75	2–9	81	—
7. Benzoylekgonin . .	52	3–17	59	2–9	83	—
8. Nicotinhydrochlorid	50	3–17	76	2–9	81	—
9. Coniinhydrochlorid	59	3–18	80	2–10	84	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	70	W 8–30	90	W 5–18	89	W 5–15
2. Piperin	51	5–27	87	4–16	83	4–14
3. Piperinsäure . . .	47	5–24	81	4–15	80	4–15
4. Pilocarpinhydrochlorid	65	5–28	82	4–16	90	4–15
5. Cocainhydrochlorid	41	4–22	82	5–20	80	5–15
6. Ekgonin	53	7–30	81	5–18	83	5–16
7. Benzoylekgonin . .	56	8–23	67	4–16	82	4–14
8. Nicotinhydrochlorid	58	8–29	80	5–21	85	5–17
9. Coniinhydrochlorid	61	7–28	88	5–22	90	5–19
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	80	W 15–37, S Sp–7	92	S 6–29	92	S 4–20
2. Piperin	63	8–33, 0–6	91	5–27	89	4–20
3. Piperinsäure . . .	57	9–30, 0–5	87	4–27	84	5–23
4. Pilocarpinhydrochlorid	65	10–35, Sp–7	88	4–31	93	5–22
5. Cocainhydrochlorid	67	3–38, 0–4	88	6–32	80	5–25
6. Ekgonin	67	3–39, 0–5	85	4–31	87	5–25
7. Benzoylekgonin . .	80	5–39, 0–5	85	4–32	86	4–23
8. Nicotinhydrochlorid	70	6–40, 0–5	87	5–34	80	5–24
9. Coniinhydrochlorid	75	4–38, 0–5	94	4–32	92	5–25
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	93	S 5–12	97	S 15–51	92	S 15–41
2. Piperin	71	Sp–10	91	14–50	90	11–34
3. Piperinsäure . . .	79	2–8	86	14–50	84	14–41
4. Pilocarpinhydrochlorid	67	2–9	88	16–54	93	17–43
5. Cocainhydrochlorid	85	Sp–10	88	17–60	84	18–51

I. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/250 Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Erbsen	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
6. Ekgonin	83	S Sp–11	87	S 18–57	87	S 11–50
7. Benzoylekgonin	81	2–11	90	19–58	88	18–44
8. Nicotinhydrochlorid	74	Sp–10	89	20–54	80	10–38
9. Coniinhydrochlorid	77	2–9	96	22–55	92	10–44
Am 15. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 22–46	—	S 70–136	—	S 33–74
2. Piperin	—	15–44	—	64–128	—	30–62
3. Piperinsäure	—	14–43	—	63–129	—	26–65
4. Pilocarpinhydrochlorid	—	14–42	—	58–140	—	29–70
5. Cocainhydrochlorid	—	20–45	—	66–138	—	30–70
6. Ekgonin	—	18–44	—	65–130	—	28–70
7. Benzoylekgonin	—	22–45	—	62–140	—	29–72
8. Nicotinhydrochlorid	—	19–47	—	65–141	—	31–73
9. Coniinhydrochlorid	—	18–45	—	60–140	—	30–71

Das Wurzelsystem war bei Coniin, Nicotin, Benzoylekgonin und Ekgonin fast normal entwickelt, ein wenig schwächer bei Cocain und Pilocarpin und relativ am schwächsten bei Piperinsäure und Piperin.

II. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 5. bis 20. IV.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Gerste
Am 3. Versuchstage:				
1. Wasser	90	W 6–11	87	W 4–11
2. Piperidin 1/100 Mol	88	3–6	79	3–9
3. " 1/50 "	77	3–6	75	3–8
4. Piperinsäure 1/100 Mol	76	5–7	79	4–11
5. Piperidin 1/100 Mol + Piperinsäure 1/100 Mol	81	1–3	0	—
6. Piperidin 1/50 Mol + Piperinsäure 1/100 Mol	14	1–2	0	—
7. Coniinhydrochlorid 1/100 Mol	86	6–11	85	5–11
8. " 1/50 "	77	5–10	70	2–10
9. Nicotinhydrochlorid 1/100 Mol	40	1–5	77	2–10
10. " 1/50 "	0	—	60	2–8
Am 5. Versuchstage:				
1. Wasser	96	W 20–33, S 4–10	89	S 6–14
2. Piperidin 1/100 Mol	90	10–19, Sp–3	87	0–9
3. " 1/50 "	83	8–16, Sp–2	83	0–9
4. Piperinsäure 1/100 Mol	84	8–26, 4–8	86	4–9

II. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste
5. Piperidin $^1/_{100}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	87	W 4–10, 0–Sp	6	S 0
6. Piperidin $^1/_{50}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	83	1–6, 0–Sp	0	—
7. Coniinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol .	95	20–32, 5–7	93	2–11
8. " $^1/_{50}$ " .	84	19–31, 5–7	83	2–9
9. Nicotinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	85	meist v, bei 8 : 13–23 0–10	83	2–10
10. " $^1/_{50}$ "	14	v	81	0–8
Am 7. Versuchstage:				
1. Wasser	98	S 18–40	89	S 40–72
2. Piperidin $^1/_{100}$ Mol	90	8–12	91	28–52
3. " $^1/_{50}$ "	83	6–8	87	22–54
4. Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol . . .	90	15–25	86	26–52
5. Piperidin $^1/_{100}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	91	3–7	9	5–8
6. Piperidin $^1/_{50}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	86	0–4	0	—
7. Coniinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol .	95	13–30	93	31–60
8. " $^1/_{50}$ " .	88	11–30	90	21–60
9. Nicotinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	87	56 % mit S 10–20	83	20–60
10. " $^1/_{50}$ "	16	10–20	81	11–51
Am 11. Versuchstage:				
1. Wasser	98	S 60–90	89	S 80–126
2. Piperidin $^1/_{100}$ Mol	90	27–42	91	50–108
3. " $^1/_{50}$ "	83	12–24	87	50–106
4. Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol . . .	90	44–75	86	68–120
5. Piperidin $^1/_{100}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	91	8–23	12	18–40
6. Piperidin $^1/_{50}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	86	26 % mit S 7–14	0	—
7. Coniinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol .	95	50–80	93	75–125
8. " $^1/_{50}$ " .	88	48–79	90	70–120
9. Nicotinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	87	40–75	83	67–116
10. " $^1/_{50}$ "	20	22–40	81	45–110
Am 14. Versuchstage:				
1. Wasser	—	S 95–140	—	S 112–163
2. Piperidin $^1/_{100}$ Mol	—	60–83	—	90–144
3. " $^1/_{50}$ "	—	30–56	—	90–140
4. Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol . . .	—	80–125	—	105–150
5. Piperidin $^1/_{100}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	—	24–58	—	47–96
6. Piperidin $^1/_{50}$ Mol + Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol	—	12–26	—	—
7. Coniinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol .	—	82–135	—	107–154
8. " $^1/_{50}$ " .	—	80–120	—	100–150
9. Nicotinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	—	68–120	—	97–150
10. " $^1/_{50}$ "	—	30–78	—	90–148

Die Wurzeln waren bei Coniinhydrochlorid $^1/_{100}$ und $^1/_{50}$ Mol fast so entwickelt wie beim Kontrollversuch, dann folgen mit zunehmender Schädigung Piperidin $^1/_{100}$ Mol, Piperidin $^1/_{50}$ Mol, Nicotin $^1/_{100}$ Mol, Nicotin $^1/_{50}$ Mol, Piperinsäure $^1/_{100}$ Mol, vollkommen verkümmert waren die Wurzeln bei der kombinierten Einwirkung von Piperidin und Piperinsäure.

III. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 21. VI. bis 5. VII.
Zimmertemperatur: 14 bis 17° R.

$^1/_{25}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
Am 3. Versuchstage.						
1. Wasser	93	W 6–11	95	W 2–10	90	—
2. Piperidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	93	1–5	90	2–9	77	—
3. Piperidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	89	1–5	88	2–7	72	—
4. Coniinhydrochlorid .	94	2–11	87	2–10	78	—
5. Nicotinhydrochlorid .	2	Sp	65	2–4	2	—
6. Atropinsulfat	85	1–4	84	2–6	52	—
7. Tropin	44	1–6	88	2–9	6	—
8. Tropasäure	0	—	0	—	0	—
9. Hyoscyaminhydrobromid	92	1–7	79	2–9	51	—
10. Cocainhydrochlorid .	81	1–4	80	2–9	49	—
11. Benzoylekgonin . . .	90	1–9	91	2–9	91	—
12. Ekgonin	94	5–11	92	2–10	88	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	97	W 14–20, S 3–7	96	W 12–25, S 4–10	96	—
2. Piperidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	95	5–7, Sp–2	92	5–18, 2–9	81	—
3. Piperidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	92	4–6, Sp–2	90	5–14, 2–7	76	—
4. Coniinhydrochlorid .	94	9–17, 2–4	89	10–22, 3–9	86	—
5. Nicotinhydrochlorid .	22	1–3, —	71	4–12, 1–7	4	—
6. Atropinsulfat	87	3–8, 0–Sp	86	6–20, 2–7	67	—
7. Tropin	62	1–7, 0–4	88	5–19, 2–9	16	—
8. Tropasäure	2	1–3, 0	12	2–7, —	0	—
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	—	—	—	—	—
10. Cocainhydrochlorid .	85	1–4, 0–Sp	80	5–19, 2–8	67	—
11. Benzoylekgonin . . .	90	7–15, Sp–2	93	6–18, 3–8	95	—
12. Ekgonin	96	13–20, 3–7	94	8–25, 4–10	94	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	97	W 22–32, S 6–11	96	S 14–27	97	S 8–19
2. Piperidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	95	7–11, Sp–2	94	6–20	87	5–16
3. Piperidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	93	4–10, Sp–2	92	5–18	76	4–15

III. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/25 Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Weißer Senf
4. Coniinhydrochlorid .	94	W 12–26, S 2–7	93	S 12–25	90	S 7–19
5. Nicotinhydrochlorid .	24	—	73	3–16	4	0
6. Atropinsulfat	87	3–11, Sp–2	90	5–19	69	2–11
7. Tropin	65	4–20, Sp–7	88	9–21	16	2–8
8. Tropasäure	4	v	18	2–4	0	—
9. Hyoscyaminhydrobromid	92	2–22, Sp–6	87	8–24	55	3–11
10. Cocainhydrochlorid .	85	v	86	10–25	81	0–7
11. Benzoylekgonin . . .	90	17–26, 4–7	95	11–25	97	8–19
12. Ekgonin	96	20–32, 6–9	94	13–26	95	8–18
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 19–37	—	S 42–63	—	S 13–45
2. Piperidinhydrochlorid 1/50 Mol	—	Sp–6	—	20–50	—	10–40
3. Piperidinhydrochlorid 1/25 Mol	—	Sp–5	—	18–48	—	10–37
4. Coniinhydrochlorid .	—	10–20	—	37–58	—	12–35
5. Nicotinhydrochlorid .	—	3–19	—	26–46	—	0
6. Atropinsulfat	—	2–10	—	30–55	—	8–26
7. Tropin	—	4–20	—	32–58	—	10–30
8. Tropasäure	—	v	—	8–11	—	0
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	5–20	—	30–60	—	9–30
10. Cocainhydrochlorid .	—	v	—	26–58	—	8–27
11. Benzoylekgonin . . .	—	14–22	—	38–62	—	13–40
12. Ekgonin	—	16–32	—	41–63	—	12–45
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 40–68	—	S 80–110	—	S 28–52
2. Piperidinhydrochlorid 1/50 Mol	—	3–12	—	40–80	—	25–46
3. Piperidinhydrochlorid 1/25 Mol	—	2–8	—	37–75	—	25–44
4. Coniinhydrochlorid .	—	29–60	—	72–100	—	27–48
5. Nicotinhydrochlorid .	—	6–32	—	48–95	—	0
6. Atropinsulfat	—	6–28	—	60–98	—	23–42
7. Tropin	—	9–48	—	71–108	—	21–40
8. Tropasäure	—	—	—	17–40	—	0
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	10–42	—	53–106	—	25–45
10. Cocainhydrochlorid .	—	Sp–5	—	55–100	—	15–40
11. Benzoylekgonin . . .	—	28–45	—	77–110	—	28–51
12. Ekgonin	—	35–66	—	80–110	—	25–52
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 63–90	—	S 90–130	—	S 36–62
2. Piperidinhydrochlorid 1/50 Mol	—	3–16	—	60–100	—	30–60
3. Piperidinhydrochlorid 1/25 Mol	—	3–13	—	60–90	—	29–57
4. Coniinhydrochlorid .	—	44–75	—	82–117	—	34–61
5. Nicotinhydrochlorid .	—	13–45	—	70–112	—	0

III. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/25 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
6. Atropinsulfat	—	S 11–37	—	S 84–118	—	S 34–55
7. Tropin	—	14–60	—	90–135	—	30–60
8. Tropasäure	—	—	—	32–62	—	0
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	15–49	—	75–125	—	35–55
10. Cocainhydrochlorid	—	Sp–5	—	80–116	—	20–55
11. Benzoylekgonin	—	40–58	—	90–120	—	37–65
12. Ekgonin	—	50–80	—	92–130	—	36–70
Am 12. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 90–120	—	S 120–160	—	S 50–77
2. Piperidinhydrochlorid 1/50 Mol	—	4–37	—	76–150	—	35–74
3. Piperidinhydrochlorid 1/25 Mol	—	3–20	—	70–136	—	33–72
4. Coniinhydrochlorid	—	66–104	—	100–150	—	40–74
5. Nicotinhydrochlorid	—	16–60	—	90–140	—	0
6. Atropinsulfat	—	14–52	—	100–150	—	40–60
7. Tropin	—	25–97	—	120–170	—	38–68
8. Tropasäure	—	—	—	60–110	—	0
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	42–96	—	97–160	—	40–62
10. Cocainhydrochlorid	—	—	—	98–142	—	30–60
11. Benzoylekgonin	—	50–86	—	100–156	—	40–70
12. Ekgonin	—	70–126	—	120–165	—	48–75

Das Wurzelsystem war in abnehmender Reihenfolge bei Ekgonin, Coniin und Benzoylekgonin dem Kontrollversuch nahezu gleich, bei den übrigen mehr oder weniger geschwächt, die Schädigung nahm in folgender Reihenfolge zu: Piperidin 1/50 Mol, Hyoscyamin, Tropin, Atropin, Piperidin 1/25 Mol; verkümmert waren die Wurzeln bei Cocain, Nicotin und Tropasäure.

IV. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 16. II. bis 4. III.
Zimmertemperatur: 7 bis 15° R.

1/250 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	95	—	71	—	83	—
2. Lupinin	95	—	69	—	77	—
3. Lupinidinsulfat	92	—	60	—	73	—
4. Atropinsulfat	80	—	70	—	72	—
5. Tropin	84	—	66	—	76	-
6. Tropasäure	91	—	66	—	84	—
7. Tropin + Tropasäure	86	—	70	—	81	

IV. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	96	W 8–20, S 0–4	89	W 6–17, S Sp–6	96	W 2–13, S 0–5
2. Lupinin	95	7–17, 0–3	89	5–15, Sp–6	93	2–12, 0–5
3. Lupinidinsulfat	92	7–16, 0–3	81	4–16, Sp–6	88	2–12, 0–6
4. Atropinsulfat	83	5–15, 0–2	82	3–14, Sp–4	80	2–12, 0–5
5. Tropin	84	4–16, 0–3	80	4–12, Sp–4	86	2–11, 0–4
6. Tropasäure	91	4–14, 0–2	80	3–11, Sp–4	88	2–13, 0–5
7. Tropin + Tropasäure	87	5–13, 0–3	82	3–12, Sp–5	83	2–13, 0–5
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	96	S 2–6	93	S 3–16	96	S 4–12
2. Lupinin	96	2–6	93	3–19	93	4–12
3. Lupinidinsulfat	94	2–7	94	3–14	93	3–10
4. Atropinsulfat	90	0–4	92	3–15	80	3–11
5. Tropin	90	Sp–5	88	2–15	92	4–12
6. Tropasäure	91	2–5	88	4–16	91	3–12
7. Tropin + Tropasäure	91	2–6	90	4–17	87	3–13
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	96	S 5–12	95	S 12–41	96	S 10–32
2. Lupinin	96	5–12	93	11–42	93	10–32
3. Lupinidinsulfat	94	4–12	94	9–40	93	9–29
4. Atropinsulfat	90	2–9	92	11–36	92	11–30
5. Tropin	90	2–11	88	9–41	92	10–31
6. Tropasäure	91	3–10	93	10–42	91	9–30
7. Tropin + Tropasäure	91	3–11	90	10–41	88	9–30

Das Wachstum der Wurzeln blieb im allgemeinen gegenüber dem Kontrollversuch ein wenig zurück, relativ am schwächsten war die Wurzelentwicklung bei Tropasäure.

V. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 9. bis 22. IV.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

$^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste
Am 3. Versuchstage:				
1. Wasser	90	W 6–12	88	W 5–13
2. Atropingehalt	89	5–10	75	5–11
3. Atropin	87	4–10	71	4–10
4. Tropin	95	5–11	89	5–12
5. Tropasäure	25	1–5	88	2–8
6. Atropasäure	0	—	0	—
7. Tropin + Tropasäure	87	5–11	77	2–8
8. Tropin + Atropasäure	30	Sp	65	2–6
9. Hyoscyaminhydrobromid	87	5–10	71	4–11
10. Cocainhydrochlorid	89	6–11	86	5–11
11. Benzoylekgonin	90	5–11	85	5–11
12. Ekgonin	90	6–11	90	4–11

V. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^{1}/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Gerste
Am 4. Versuchstage:				
1. Wasser	90	W 10–20, S Sp–3	91	W 9–20
2. Atropinsulfat	89	9–19, Sp–2	86	7–18
3. Atropin	87	8–17, Sp–2	82	7–19
4. Tropin	95	10–19, Sp–2	92	8–19
5. Tropasäure	50	1–7, 0	89	5–16
6. Atropasäure	0	—, —	0	—
7. Tropin + Tropasäure	88	7–19, Sp–2	90	8–17
8. Tropin + Atropasäure	74	Sp–3, 0	75	5–12
9. Hyoscyaminhydrobromid	89	8–18, Sp–2	90	7–19
10. Cocainhydrochlorid	90	9–19, Sp–2	88	8–19
11. Benzoylekgonin	91	8–19, Sp–2	87	6–19
12. Ekgonin	92	9–20, Sp–2	91	8–19
Am 6. Versuchstage:				
1. Wasser	91	W 24–44, S 5–10	92	S 12–25
2. Atropinsulfat	91	21–42, 3–6	89	5–22
3. Atropin	89	20–35, 3–6	84	5–23
4. Tropin	96	23–42, 4–7	92	10–23
5. Tropasäure	86	2–9, 0–5	90	5–20
6. Atropasäure	0	—, —	0	—
7. Tropin + Tropasäure	91	16–36, 3–7	91	8–22
8. Tropin + Atropasäure	84	2–5, 0–Sp	81	4–19
9. Hyoscyaminhydrobromid	90	20–42, 4–7	91	5–22
10. Cocainhydrochlorid	91	23–43, 4–8	90	11–23
11. Benzoylekgonin	91	21–43, 5–8	87	8–25
12. Ekgonin	92	24–45, 5–8	92	10–25
Am 7. Versuchstage:				
1. Wasser	92	S 7–15	92	S 21–34
2. Atropinsulfat	91	5–7	89	18–32
3. Atropin	90	5–7	84	18–32
4. Tropin	96	6–10	92	21–31
5. Tropasäure	86	2–6	90	15–26
6. Atropasäure	0	—	0	—
7. Tropin + Tropasäure	91	5–10	91	20–30
8. Tropin + Atropasäure	87	0–Sp	82	12–26
9. Hyoscyaminhydrobromid	90	5–7	91	19–30
10. Cocainhydrochlorid	91	5–9	90	20–30
11. Benzoylekgonin	91	6–9	87	19–32
12. Ekgonin	92	6–9	93	19–32
Am 10. Versuchstage:				
1. Wasser	—	S 20–36	—	S 68–95
2. Atropinsulfat	—	18–30	—	48–88
3. Atropin	—	17–31	—	50–90
4. Tropin	—	19–32	—	52–90
5. Tropasäure	—	8–19	—	46–87
6. Atropasäure	—	0	—	0
7. Tropin + Tropasäure	—	19–35	—	50–90
8. Tropin + Atropasäure	—	5–11	—	28–77
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	18–33	—	51–90
10. Cocainhydrochlorid	—	17–34	—	50–90

V. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Gerste
11. Benzoylekgonin	—	S 19—33	—	S 51—91
12. Ekgonin	—	19—36	—	52—92
Am 12. Versuchstage:				
1. Wasser	—	S 40—64	—	S 80—120
2. Atropinsulfat	—	28—50	—	68—115
3. Atropin	—	30—50	—	70—116
4. Tropin	—	30—55	—	72—117
5. Tropasäure	—	20—36	—	66—110
6. Atropasäure	—	0	—	0
7. Tropin + Tropasäure	—	30—60	—	67—118
8. Tropin + Atropasäure	—	8—23	—	64—114
9. Hyoscyaminhydrobromid	—	25—56	—	71—115
10. Cocainhydrochlorid	—	27—52	—	70—116
11. Benzoylekgonin	—	29—56	—	72—119
12. Ekgonin	—	30—56	—	73—120

Das Wurzelsystem war bei Tropin und Ekgonin normal entwickelt, nahezu normal war die Entwicklung der Wurzeln in abnehmender Reihenfolge bei Benzoylekgonin, Cocainhydrochlorid, Hyoscyaminhydrobromid, Atropinsulfat, Atropin, Tropin + Tropasäure, am schwächsten war die Wurzelbildung bei Tropasäure und Tropin + Atropasäure, bei Atropasäure allein kam es überhaupt nicht zu einer Wurzelbildung bzw. Keimung.

VI. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 22. IV. bis 9. V.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

$^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Weißer Senf
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 7—12	92	W 6—18, S 1—4	83	—
2. Atropinsulfat	86	4—8	88	2—10, 0—2	56	—
3. Tropin	85	1—12	87	4—9, 1—3	58	—
4. Tropasäure	2	1—2	44	2—8, 0—2	0	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	86	2—10	80	2—10, 0—2	75	—
6. Cocainhydrochlorid	87	2—9	80	2—10, 0—3	57	—
7. Ekgonin	85	8—12	87	3—11, 0—3	81	—
8. Benzoylekgoin	84	7—11	87	2—10, 0—3	80	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 15—28, S 2—4	94	W 10—21, S 4—10	87	—
2. Atropinsulfat	89	6—15, Sp—3	91	9—19, 3—9	72	—
3. Tropin	87	7—20, Sp—4	90	9—20, 4—10	83	—
4. Tropasäure	2	5—10, Sp	80	5—18, 2—6	0	—

VI. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Weißer Senf
5. Hyoscyaminhydrobromid	88	W 9–22, S Sp–2	90	W 9–20, S 4–9	78	—
6. Cocainhydrochlorid	89	6–19, Sp–2	92	10–20, 4–10	61	—
7. Ekgonin	88	15–27, Sp–4	91	10–20, 4–10	87	—
8. Benzoylekgonin	87	9–23, Sp–3	91	9–19, 4–10	88	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	93	S 8–11	95	S 30–40	93	S 12–25
2. Atropinsulfat	89	1–7	91	23–37	88	7–18
3. Tropin	90	2–9	91	25–40	89	10–20
4. Tropasäure	4	0–4	89	17–36	2	0
5. Hyoscyaminhydrobromid	90	1–8	91	21–37	78	7–20
6. Cocainhydrochlorid	89	1–7	92	20–40	85	7–17
7. Ekgonin	91	7–10	93	25–40	93	10–24
8. Benzoylegonin	88	4–10	93	24–40	92	10–23
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 15–20	—	S 56–82	—	S 22–38
2. Atropinsulfat	—	5–10	—	40–77	—	17–28
3. Tropin	—	10–19	—	47–80	—	21–35
4. Tropasäure	—	v	—	29–75	—	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	—	5–13	—	43–78	—	20–32
6. Cocainhydrochlorid	—	4–14	—	48–79	—	17–31
7. Ekgonin	—	14–20	—	52–84	—	21–36
8. Benzoylekgonin	—	9–20	—	51–80	—	20–36
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 28–42	—	S 87–120	—	S 30–46
2. Atropinsulfat	—	10–28	—	65–110	—	23–38
3. Tropin	—	21–38	—	78–117	—	25–43
4. Tropasäure	—	v	—	56–109	—	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	—	17–36	—	70–112	—	25–40
6. Cocainhydrochlorid	—	15–33	—	75–113	—	21–40
7. Ekgonin	—	28–43	—	80–120	—	28–45
8. Benzoylekgonin	—	20–41	—	80–118	—	27–44
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 37–55	—	S 100–130	—	S 35–49
2. Atropinsulfat	—	18–34	—	80–117	—	27–40
3. Tropin	—	30–50	—	90–125	—	30–45
4. Tropasäure	—	v	—	72–116	—	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	—	28–49	—	86–124	—	29–45
6. Cocainhydrochlorid	—	21–42	—	90–129	—	26–41
7. Ekgonin	—	30–57	—	95–130	—	32–48
8. Benzoylekgonin	—	25–55	—	95–130	—	30–46

Das Wurzelsystem war bei Ekgonin und Tropin fast so entwickelt wie beim Kontrollversuch, mehr oder weniger zu-

rückgeblieben ist die Wurzelentwicklung in zunehmender Reihenfolge bei Benzoylekgonin, Hyoscyaminhydrobromid, Cocainhydrochlorid, Atropinsulfat und endlich bei Tropasäure.

VII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 8. bis 24. V.
Zimmertemperatur: 12 bis 16° R.

1/50 Mol pro 1 l Wasser Quellungsdauer 48 Std.	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 5–14	80	W 2–10, S 0–4	87	—
2. Atropinsulfat	87	2–6	77	2–8, 0–3	43	—
3. Tropin	86	3–9	87	2–9, 0–3	50	—
4. Tropasäure	0	—	52	2–6, 0–2	0	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	86	3–9	77	2–8, 0–3	75	—
6. Cocainhydrochlorid	91	2–7	81	2–8, 0–3	69	—
7. Ekgonin	91	5–12	85	2–9, 0–3	80	—
8. Benzoylekgonin	90	3–9	79	2–9, 0–3	83	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 13–22, S 2–4	96	W 8–25, S 4–8	89	—
2. Atropinsulfat	91	3–11, 0–2	89	7–22, 2–6	55	—
3. Tropin	93	7–15, Sp–3	95	7–23, 3–7	83	—
4. Tropasäure	3	—	62	4–13, Sp–5	0	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	90	4–12, 0–2	91	8–20, 2–6	83	—
6. Cocainhydrochlorid	94	3–11, 0–2	91	8–18, 3–7	75	—
7. Ekgonin	92	12–20, 2–4	96	8–22, 4–8	84	—
8. Benzoylekgonin	90	7–15, Sp–2	90	8–20, 3–7	85	—
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 35–53, S 5–11	96	S 20–34	92	—
2. Atropinsulfat	92	3–20, 0–5	91	17–30	75	—
3. Tropin	93	17–30, 4–10	96	20–32	93	—
4. Tropasäure	3	—	80	9–25	0	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	93	11–25, Sp–7	93	18–30	88	—
6. Cocainhydrochlorid	93	10–22, 0–5	90	15–30	77	—
7. Ekgonin	95	30–51, 6–10	96	17–34	94	—
8. Benzoylekgonin	92	17–34, 6–9	94	16–33	89	—
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 10–22	—	S 43–72	—	S 17–37
2. Atropinsulfat	—	Sp–11	—	38–65	—	0–18
3. Tropin	—	10–19	—	41–71	—	10–25
4. Tropasäure	3	—	—	30–62	—	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	—	5–15	—	42–70	—	10–24
6. Cocainhydrochlorid	—	Sp–13	—	41–68	—	10–23
7. Ekgonin	—	11–22	—	42–72	—	15–32
8. Benzoylekgonin	—	10–17	—	40–71	—	15–33

VII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/50 Mol pro 1 l Wasser Quellungsdauer 48 Std.	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Weißer Senf
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 24–42	—	S 80–108	—	S 23–43
2. Atropinsulfat	—	8–25	—	70–100	—	2–24
3. Tropin	—	17–39	—	77–108	—	16–35
4. Tropasäure	—	—	—	46–97	—	—
5. Hyoscyaminhydrobromid	—	15–35	—	70–106	—	14–38
6. Cocainhydrochlorid	—	10–26	—	66–98	—	15–33
7. Ekgonin	—	25–42	—	73–108	—	19–39
8. Benzoylekgonin	—	16–35	—	65–104	—	17–40

Das Wurzelsystem bei Ekgonin, Tropin und Benzoylekgonin war nahezu normal, etwas geschwächt erschien es bei Hyoscyaminhydrobromid und Cocainhydrochlorid (insbesondere beim weißen Senf), noch schwächer war es bei Atropinsulfat und am schwächsten bei Tropasäure.

VIII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 11. bis 26. X.
Zimmertemperatur: 9 bis 15° R.

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 5–8	94	W 2–6, S 0–2	89	—
2. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol	91	2–6	94	Sp–3, 0–1	80	—
3. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropinsulfat 1/500 Mol	93	2–6	94	Sp–4, 0–1	89	—
4. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropin 1/500 Mol	88	1–6	89	Sp–3, 0–1	83	—
5. Atropinsulfat 1/500 Mol	92	1–7	94	Sp–4, 0–1	88	—
6. Atropin 1/500 Mol	93	3–8	90	Sp–5, 0–1	89	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 9–13, S Sp–3	94	W 8–12, S 2–4	91	—
2. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol	92	6–10, 0–Sp	94	6–11, 1–3	85	—
3. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropinsulfat 1/500 Mol	94	4–10, 0–Sp	95	6–10, 1–3	91	—
4. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropin 1/500 Mol	90	3–9, 0–Sp	91	4–9, 1–3	85	—

VIII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
5. Atropinsulfat 1/500 Mol	92	W 7–12, S Sp–2	94	W 6–12, S 1–3	88	—
6. Atropin 1/500 Mol	93	9–14, Sp–2	92	7–11, 1–3	90	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 4–8	95	S 13–22	93	—
2. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol	93	2–4	94	12–21	90	—
3. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropinsulfat 1/500 Mol	92	Sp–3	94	12–22	93	—
4. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropin 1/500 Mol	90	Sp–2	93	11–21	92	—
5. Atropinsulfat 1/500 Mol	93	2–7	94	12–23	92	—
6. Atropin 1/500 Mol	93	2–7	93	11–21	93	—
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 9–16	—	S 32–55	—	S 10–23
2. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol	—	2–6	—	30–51	—	7–20
3. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropinsulfat 1/500 Mol	—	2–5	—	30–52	—	8–21
4. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropin 1/500 Mol	—	2–5	—	26–51	—	8–20
5. Atropinsulfat 1/500 Mol	—	6–15	—	30–53	—	9–23
6. Atropin 1/500 Mol	—	7–15	—	30–54	—	9–23
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 16–26	—	S 49–84	—	S 17–32
2. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol	—	3–8	—	44–80	—	11–29
3. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropinsulfat 1/500 Mol	—	3–7	—	45–82	—	11–30
4. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropin 1/500 Mol	—	3–7	—	42–81	—	10–29
5. Atropinsulfat 1/500 Mol	—	10–22	—	45–83	—	16–35
6. Atropin 1/500 Mol	—	11–25	—	48–82	—	17–34
Am 14. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 40–60	—	S 92–143	—	S 30–56
2. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol	—	8–29	—	86–138	—	28–53
3. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropinsulfat 1/500 Mol	—	8–28	—	88–140	—	28–54
4. Pilocarpinhydrochlorid 1/25 Mol + Atropin 1/500 Mol	—	7–27	—	85–139	—	27–52
5. Atropinsulfat 1/500 Mol	—	36–60	—	89–141	—	30–58
6. Atropin 1/500 Mol	—	36–58	—	91–140	—	30–58

Die Wurzelentwicklung war bei Atropinsulfat und Atropin ungefähr gleich und im Vergleich zum Kontrollversuch nur wenig zurückgeblieben; mehr geschwächt erschien das Wurzelsystem der übrigen Versuchsobjekte, und zwar in zunehmender Reihenfolge bei Pilocarpin + Atropinsulfat, Pilocarpin und Pilocarpin + Atropin.

IX. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 20. IV. bis 3. V.
Zimmertemperatur: 9 bis 16° R.

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen
Am 3. Versuchstage:				
1. Wasser	91	W 8–11	93	W 4–9, S Sp–3
2. Lupinin $^1/_{100}$ Mol	80	1–9	81	2–7, 0–2
3. Cytisinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	85	2–10	80	2–8, 0–2
4. Cytisinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	84	1–9	72	2–7, 0–2
Am 4. Versuchstage:				
1. Wasser	91	W 14–21, S 2–4	95	W 12–20, S 3–7
2. Lupinin $^1/_{100}$ Mol	80	7–14, Sp–2	94	9–18, 2–6
3. Cytisinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	85	8–20, 2–4	90	9–17, 2–5
4. Cytisinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	84	8–18, 2–4	86	8–16, 2–4
Am 6. Versuchstage:				
1. Wasser	93	W 30–55, S 9–19	96	S 30–40
2. Lupinin $^1/_{100}$ Mol	84	12–39, 3–10	94	14–34
3. Cytisinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	90	22–40, 5–10	92	13–41
4. Cytisinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	86	14–35, 4–10	92	12–40
Am 7. Versuchstage:				
1. Wasser	95	W 35–65, S 12–25	96	S 38–60
2. Lupinin $^1/_{100}$ Mol	85	25–40, 6–13	95	30–40
3. Cytisinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	94	30–52, 9–20	92	30–57
4. Cytisinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	87	23–50, 7–18	92	22–52
Am 9. Versuchstage:				
1. Wasser	—	S 21–37	—	72–115
2. Lupinin $^1/_{100}$ Mol	—	12–28	—	55–98
3. Cytisinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol	—	19–37	—	66–110
4. Cytisinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	—	17–36	—	60–108

Die Wurzelbildung war am besten und kam dem Kontrollversuch am nächsten bei Cytisinhydrochlorid $^1/_{100}$ Mol, etwas schwächer entwickelt waren die Wurzeln bei Cytisinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol und am schwächsten bei Lupinin $^1/_{100}$ Mol.

X. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 20. XI. bis 9. XII.

Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Raps
Am 3. Versuchstage:				
1. Wasser	95	W 3–6	80	—
2. Lupinidinsulfat $^1/_{100}$ Mol . .	95	2–5	74	—
3. " $^1/_{50}$ " . .	82	1–4	65	—
4. Sparteinsulfat $^1/_{100}$ " . .	94	2–6	74	—
5. " $^1/_{50}$ " . .	85	1–4	69	—
Am 5. Versuchstage:				
1. Wasser	96	W 8–18, S Sp–3	89	—
2. Lupinidinsulfat $^1/_{100}$ Mol . .	95	6–16, Sp–3	78	—
3. " $^1/_{50}$ " . .	92	5–13, Sp–2	73	—
4. Sparteinsulfat $^1/_{100}$ " . .	96	7–15, Sp–3	80	—
5. " $^1/_{50}$ " . .	91	7–14, Sp–3	75	—
Am 6. Versuchstage:				
1. Wasser	96	W 12–23, S 2–6	89	—
2. Lupinidinsulfat $^1/_{100}$ Mol . .	95	11–20, 2–5	83	—
3. " $^1/_{50}$ " . .	93	10–19, 2–4	79	—
4. Sparteinsulfat $^1/_{100}$ " . .	96	10–21, 2–5	85	—
5. " $^1/_{50}$ " . .	91	9–20, 2–5	81	—
Am 10. Versuchstage:				
1. Wasser	—	S 13–20	—	S 18–35
2. Lupinidinsulfat $^1/_{100}$ Mol . .	—	10–17	—	15–32
3. " $^1/_{50}$ " . .	—	8–16	—	12–31
4. Sparteinsulfat $^1/_{100}$ " . .	—	11–19	—	17–34
5. " $^1/_{50}$ " . .	—	9–17	—	13–32
Am 16. Versuchstage:				
1. Wasser	—	S 45–68	—	S 41–60
2. Lupinidinsulfat $^1/_{100}$ Mol . .	—	36–58	—	40–58
3. " $^1/_{50}$ " . .	—	34–53	—	37–55
4. Sparteinsulfat $^1/_{100}$ " . .	—	38–62	—	41–60
5. " $^1/_{50}$ " . .	—	35–57	—	39–58

Die Wurzelentwicklung blieb gegen das normale Wurzelwachstum zurück, und zwar mit zunehmender Schädigung bei Lupinidinsulfat $^1/_{100}$ Mol, Sparteinsulfat $^1/_{100}$ Mol, Sparteinsulfat $^1/_{50}$ Mol und Lupinidinsulfat $^1/_{50}$ Mol.

XI. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 9. bis 20. XII.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

	Blaue Lupinen Keimprozente				
Versuchstag:	2.	3.	4.	5.	6.
1. Wasser	9	20	32	37	42
2. Lupinin $^1/_{100}$ Mol	17	30	36	44	47
3. " $^1/_{200}$ "	13	30	41	43	46
4. Lupinidinsulfat $^1/_{200}$ Mol	16	29	37	39	46
5. Sparteinsulfat $^1/_{200}$ "	11	30	42	48	52
6. " $^1/_{25}$ "	4	12	15	21	26

XII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 5. bis 18. V.
Zimmertemperatur: 12 bis 16° R.

$^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	91	W 7–12	92	W 5–10	85	—
2. Morphinhydrochlorid	85	2–7	69	2–8	84	—
3. Narkotinhydrochlorid	64	1–4	80	2–9	20	—
4. Berberinhydrochlorid	80	Sp–2	21	2–5	14	—
5. Strychninnitrat	77	Sp–4	79	2–8	81	—
6. Brucinhydrochlorid	80	Sp–4	86	2–9	75	—
7. Aconitinhydrochlorid	83	1–8	78	3–9	84	—
8. Veratrinhydrochlorid	89	1–8	72	2–8	90	—
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1]	90	Sp–3	0	—	21	—
10. Solanidin $^1/_{1000}$ " [1]	72	Sp–3	0	—	13	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 15–20, S 2–5	93	W 10–21, S 3–7	90	—
2. Morphinhydrochlorid	85	3–8, 0–Sp	87	6–15, 2–6	87	—
3. Narkotinhydrochlorid	82	2–9, 0–Sp	92	8–19, 2–7	26	—
4. Berberinhydrochlorid	83	Sp–3, 0	33	2–7, 1–4	20	—
5. Strychninnitrat	85	Sp–7, 0	92	5–11, 2–5	89	—
6. Brucinhydrochlorid	83	Sp–4, 0	88	9–21, 2–7	77	—
7. Aconitinhydrochlorid	85	2–10, 0–2	90	9–19, 2–6	86	—

[1]) Nach 48stündiger Einwirkungsdauer.

XII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
8. Veratrinhydrochlorid	92	W 2–11, S 0–2	77	W 6–15, S 2–5	91	—
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1]	91	8–13, Sp–2	69	2–7, 1–2	73	—
10. Solanidin $^1/_{1000}$ " [1]	80	6–12, Sp–2	85	2–10, 1–3	81	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 21–28, S 3–5	94	W 17–30, S 7–16	93	—
2. Morphinhydrochlorid	85	3–8, 0–Sp	89	11–20, 6–11	87	—
3. Narkotinhydrochlorid	82	12–23, Sp–3	93	10–23, 5–11	54	—
4. Berberinhydrochlorid	85	1–7, 0–Sp	77	2–8, 2–6	22	—
5. Strychninnitrat .	86	1–8, 0–2	93	8–14, 5–13	89	—
6. Brucinhydrochlorid	85	2–10, 0–2	90	9–26, 5–13	77	—
7. Aconitinhydrochlorid	86	3–14, 0–3	93	10–26, 6–14	90	—
8. Veratrinhydrochlorid	93	3–15, 0–3	81	9–23, 6–13	94	—
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1]	91	8–19, Sp–3	92	7–20, 3–6	91	—
10. Solanidin $^1/_{1000}$ " [1]	85	10–21, Sp–4	91	8–22, 3–7	87	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 25–36, S 5–10	94	S 20–31	93	S 12–27
2. Morphinhydrochlorid	89	3–8, 0–Sp	92	12–23	87	W v, S 8–22
3. Narkotinhydrochlorid	90	3–20, 0–4	93	12–24	70	W v, S 0–8
4. Berberinhydrochlorid	87	1–3, 0	81	W v, S 5–12	50	v
5. Strychninnitrat .	91	1–10, 0–Sp	93	S 13–27	93	W v, S 0–13
6. Brucinhydrochlorid	89	3–10, 0–Sp	93	14–29	81	W v, S 0–14
7. Aconitinhydrochlorid	90	2–22, 0–6	94	13–26	90	W z.T. v, S 5–18
8. Veratrinhydrochlorid	93	2–23, 0–5	89	12–29	94	W z.T. v, S 5–17
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1]	92	21–28, 3–7	93	5–15	92	W v, S 0–9
10. Solanidin $^1/_{1000}$ " [1]	89	13–30, 2–9	91	10–18	88	W z.T. v, S 0–15
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 36–57, S 15–23	94	S 43–70	93	S 28–45
2. Morphinhydrochlorid	89	3–9, 0–4	92	18–55	—	—
3. Narkotinhydrochlorid	90	—, 5–15	93	30–60	70	12–22
4. Berberinhydrochlorid	87	1–7, 0–5	88	5–26	50	v
5. Strychninnitrat .	91	3–15, 0–8	93	40–62	93	15–33
6. Brucinhydrochlorid	90	4–18, Sp–9	93	42–64	—	15–34

[1] Nach 48stündiger Einwirkungsdauer.

XII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
7. Aconitinhydrochlorid	93	W 10–35, S 2–17	94	S 28–65	—	S 12–28
8. Veratrinhydrochlorid	93	9–21, 1–13	90	27–54	—	11–24
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1])	92	20–44, 6–21	93	30–48	—	W v, S 10–30
10. Solanidin $^1/_{1000}$ „ [1])	90	20–50, 12–22	92	40–55	—	W z. T. v, S 12–35
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 35–46	—	S 75–112	—	S 30–48
2. Morphinhydrochlorid	—	0–10	—	60–90	—	—
3. Narkotinhydrochlorid	—	6–33	—	66–105	—	—
4. Berberinhydrochlorid	—	0–5	—	20–60	—	—
5. Strychninnitrat .	—	0–20	—	66–100	—	—
6. Brucinhydrochlorid	—	0–25	—	70–108	—	—
7. Aconitinhydrochlorid	—	18–33	—	70–110	—	—
8. Veratrinhydrochlorid	—	5–30	—	32–90	—	—
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1])	—	23–38	—	60–90	—	20–38
10. Solanidin $^1/_{1000}$ „ [1])	—	25–43	—	78–100	—	23–46
Am 12. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 55–68	—	S 100–140	—	S 36–51
2. Morphinhydrochlorid	—	0–12	—	76–135	—	—
3. Narkotinhydrochlorid	—	22–48	—	80–136	—	—
4. Berberinhydrochlorid	—	v	—	56–80	—	—
5. Strychninnitrat .	—	0–35	—	90–136	—	—
6. Brucinhydrochlorid	—	0–45	—	93–138	—	—
7. Aconitinhydrochlorid	—	26–52	—	90–140	—	26–47
8. Veratrinhydrochlorid	—	8–43	—	90–125	—	20–46
9. Solanin $^1/_{1000}$ Mol [1])	—	40–55	—	90–130	—	30–41
10. Solanidin $^1/_{1000}$ „ [1])	—	43–62	—	93–136	—	36–50

Das ganze Wurzelsystem war durchweg geschädigt, relativ am wenigsten bei Solanidin, Aconitinhydrochlorid und Narkotinhydrochlorid, dann folgen mit zunehmender Schädigung: Brucinhydrochlorid, Solanin, Strychninnitrat, Morphinhydrochlorid, Veratrinhydrochlorid und Berberinhydrochlorid.

[1]) Nach 48 stündiger Einwirkungsdauer.

XIII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 23. X. bis 9. XI.

Zimmertemperatur: 9 bis 16° R.

1/25 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	87	W 3–9	93	W 2–6	90	—
2. Morphinhydrochlorid	84	1–4	62	1–4	82	—
3. Narkotinhydrochlorid	40	Sp–4	45	Sp–3	0	—
4. Strychninnitrat	61	Sp–4	60	Sp–4	60	—
5. Brucinhydrochlorid	63	Sp–4	66	Sp–4	67	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 14–28, S 2–6	97	W 15–30, S 8–16	98	S 8–15
2. Morphinhydrochlorid	85	2–6, 0–Sp	84	4–18, 2–8	88	W v, S Sp–5
3. Narkotinhydrochlorid	80	2–6, 0–Sp	73	5–19, 2–8	10	W Sp, S 0
4. Strychninnitrat	75	2–6, 0–Sp	67	3–16, 3–11	83	S 0–4
5. Brucinhydrochlorid	81	2–7, 0–Sp	80	5–26, 5–12	83	3–8
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 10–19	—	S 33–50	—	S 17–30
2. Morphinhydrochlorid	—	0–2	—	15–38	—	2–5
3. Narkotinhydrochlorid	—	Sp–12	—	15–40	—	v
4. Strychninnitrat	—	0–4	—	14–37	—	2–6
5. Brucinhydrochlorid	—	0–7	—	17–45	—	10–23
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 20–36	—	S 56–82	—	S 23–45
2. Morphinhydrochlorid	—	0–7	—	29–75	—	v
3. Narkotinhydrochlorid	—	5–20	—	38–80	—	v
4. Strychninnitrat	—	0–11	—	40–72	—	v
5. Brucinhydrochlorid	—	Sp–17	—	40–80	—	20–37
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 30–50	—	S 78–107	—	S 30–53
2. Morphinhydrochlorid	—	0–7	—	65–95	—	v
3. Narkotinhydrochlorid	—	7–32	—	70–104	—	v
4. Strychninnitrat	—	0–15	—	70–98	—	v
5. Brucinhydrochlorid	—	3–22	—	77–106	—	26–48
Am 16. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 67–85	—	S 120–150	—	S 50–60
2. Morphinhydrochlorid	—	16–33 (bei 13 %)	—	110–140	—	v
3. Narkotinhydrochlorid	—	40–66 (bei 75 %)	—	115–146	—	v
4. Strychninnitrat	—	12–30 (bei 34 %)	—	100–140	—	v
5. Brucinhydrochlorid	—	23–61 (bei 68 %)	—	116–147	—	40–52

Das Wurzelsystem blieb durchweg gegenüber dem Kontrollversuch mehr oder weniger zurück; die beste Entwicklung der Wurzeln war bei Narkotinhydrochlorid, dann folgen mit zunehmender Schädigung Brucinhydrochlorid, Morphinhydrochlorid und Strychninnitrat.

XIV. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 28. VI. bis 11. VII.
Zimmertemperatur: 14 bis 17° R.

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 4–10	93	W 4–10, S Sp–3	84	—
2. Chininhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	12	1–5	59	Sp–4, 0–1	0	—
3. " $^1/_{25}$ "	6	1–4	44	Sp–3, 0–1	0	—
4. Cinchoninsulfat $^1/_{50}$ "	37	Sp–3	60	Sp–5, 0–1	0	—
5. " $^1/_{25}$ "	13	Sp–2	57	Sp–3, 0–1	0	—
6. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	57	1–5	63	Sp–6, 0–2	0	—
7. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	10	Sp–3	53	Sp–3, 0–1	0	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 12–20, S 2–4	94	W 10–22, S 5–10	91	—
2. Chininhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	19	1–7, 0	59	v–9, 2–6	0	—
3. " $^1/_{25}$ "	11	1–3, 0	46	v–5, 0–5	0	—
4. Cinchoninsulfat $^1/_{50}$ "	41	1–4, 0	60	v–12, 2–7	0	—
5. " $^1/_{25}$ "	15	1–3, 0	57	v–7, 2–5	0	—
6. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	58	1–6, 0–2	63	2–10, 2–7	0	—
7. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	13	1–4, 0	53	v–5, 2–5	0	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 24–34, S 4–9	94	S 14–24	92	—
2. Chininhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	25	1–8, 0–3	60	5–11	0	—
3. " $^1/_{25}$ "	12	1–4, 0–2	45	2–9	0	—
4. Cinchoninsulfat $^1/_{50}$ "	41	1–5, 0–2	62	2–13	0	—
5. " $^1/_{25}$ "	17	1–4, 0–Sp	57	2–9	0	—
6. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	61	1–6, 0–Sp	69	2–13	0	—
7. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	15	1–5, 0–Sp	58	2–10	0	—
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 16–35	94	S 54–85	92	S 15–32
2. Chininhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	25	0–5	61	7–30	0	—
3. " $^1/_{25}$ "	12	0–4	47	6–26	0	—
4. Cinchoninsulfat $^1/_{50}$ "	41	0–3	62	8–40	0	—
5. " $^1/_{25}$ "	19	0–3	58	7–24	0	—
6. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	58	0–7	73	10–38	0	—
7. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	14	0–2	60	9–26	0	—
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 33–56	94	S 100–130	92	S 22–42
2. Chininhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	25	0–6	61	21–66	0	—
3. " $^1/_{25}$ "	12	0–5	48	20–50	0	—
4. Cinchoninsulfat $^1/_{50}$ "	41	0–8	63	18–70	0	—
5. " $^1/_{25}$ "	20	0–7	58	17–53	0	—

XIV. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
6. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	58	S 0–15	74	S 22–80	0	—
7. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	14	0–3	63	19–57	0	—
Am 12. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 46–76	—	S 126–160	—	—
2. Chininhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	—	0–12	—	42–104	—	—
3. " $^1/_{25}$ "	—	0–10	—	40–66	—	—
4. Cinchoninsulfat $^1/_{50}$ "	—	0–16	—	40–110	—	—
5. " $^1/_{25}$ "	—	0–15	—	35–78	—	—
6. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{50}$ Mol	—	0–21	—	44–120	—	—
7. Cinchonidinhydrochlorid $^1/_{25}$ Mol	—	0–9	—	42–71	—	—

Das Wurzelsystem war bei sämtlichen Versuchssamen durchweg sehr geschädigt, bei den Alkaloiden mit der Konzentration $^1/_{25}$ Mol pro 1 l Wasser relativ stärker.

Über die Einwirkung von Stoffwechselendprodukten auf die Pflanzen. II.

Einwirkung N-freier pflanzlicher Stoffwechselendprodukte auf die Keimung von Samen. (Glucoside, Gerbstoffe und ihre Spaltungsprodukte.)

Von

Wilhelm Sigmund, Prag.

(Aus der k. k. deutschen technischen Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 30. März 1914.)

Glucoside.

Glucoside, deren Aglykone Phenole oder deren Derivate sind.

Arbutin $C_{12}H_{16}O_7 + H_2O$.

$^1/_{500}$ Mol Arbutin pro 1 l Wasser (0,058 $^0/_0$) war bis auf eine geringe Herabsetzung der Keimungsenergie ohne wesentlichen Nachteil für Wicken, Weizen und Raps (XVI, 2).

$^1/_{100}$ Mol Arbutin pro 1 l Waasser (0,29 $^0/_0$), hat bei denselben Versuchssamen die Keimungsenergie und die Keimprozente ein wenig vermindert und das Wachstum der Wurzeln und Stengel verzögert (XVI, 3). $^1/_{50}$ Mol. Arbutin pro 1 l Wasser (0,58 $^0/_0$) wirkte ähnlich, aber etwas nachteiliger auf dieselben Versuchssamen ein, ohne jedoch den Keimungsprozeß wesentlich zu schädigen (XVI, 4). Auch $^1/_{26}$ Mol Arbutin pro 1 l Wasser (1,1 $^0/_0$) und selbst $^1/_{13}$ Mol. (2,2 $^0/_0$) vermochten Erbsen nicht viel zu schädigen. Arbutin ist demnach ein für die Keimung von Samen wenig giftiges Glucosid.

Die Spaltprodukte des Arbutins: d-Glucose und Hydrochinon.

d-Gluose $C_6H_{12}O_6$.

Der Traubenzucker, die Zuckerkomponente der meisten Pflanzenglucoside, war selbst in größerer Konzentration, $^1/_{12}$ Mol

Glucose pro 1 l Wasser (1,5 %) ohne wesentlichen Nachteil für die Keimung der Samen.

Über die Einwirkung der Nichtzuckerkomponente des Arbutins, des Hydrochinons auf die Keimung s. S. 343.

Phloridzin und sein Spaltprodukt Phloretin.



Phloridzin $C_{21}H_{24}O + 2\,H_2O$.

Da es in kaltem Wasser schwer löslich ist, so wurde es in Form einer kalt gesättigten Lösung benützt. Eine bei 15° gesättigte Lösung enthält rund $^1/_{500}$ Mol Phlorizin pro 1 l Wasser (0,1 %). In dieser Konzentration hat Phloridzin die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken gar nicht, bei Weizen und Raps ein wenig herabgesetzt, die Entwicklung der Wurzeln und Stengel etwas verzögert (XVI, 5).

Phloretin $C_{15}H_{14}O_5$ (Phloroglucinester der p-Oxyhydratropasäure).

Wegen seiner Schwerlöslichkeit in Wasser wurde es ebenfalls als kalt gesättigte Lösung angewandt. $^1/_{500}$ Mol Phloretin pro 1 l Wasser (0,055 %) hat den Keimungsprozeß derselben Versuchssamen wie bei Phloridzin kaum beeinflußt, die Keimung verlief fast vollkommen normal (XVI, 6).

Hesperidin und sein Spaltprodukt Hesperetin.

Beide wurden wegen ihrer Schwerlöslichkeit im Wasser als kalt gesättigte Lösungen angewandt.



Hesperidin $C_{50}H_{60}O_{27}$.

$^1/_{500}$ Mol Hesperidin pro 1 l Wasser bzw. eine kalt gesättigte Lösung (es hat sich nicht alles gelöst) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps ein klein wenig vermindert und das Wachstum der Wurzeln und Stengel etwas verzögert (XVI, 7).

Wurde eine gleichprozentige, je 0,04 % Hesperidin enthaltende Quellungsflüssigkeit einmal nach Ablauf der 24stündigen Einwirkungsdauer dekantiert und das Keimbett mit destilliertem Wasser befeuchtet, das zweitemal das Keimbett mit der hesperidinhaltigen Quellungsflüssigkeit befeuchtet, so war die Wirkung in letzterem Falle etwas nachteiliger, insbesondere in bezug auf die Entwicklung der Wurzeln (XV, 12, 13).

Hesperetin $C_{16}H_{14}O_6$ (Phloroglucinester der Isoferulasäure).

Eine kalt gesättigte Lösung hat die Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps fast gar nicht beeinflußt, die Keimung verlief nahezu normal (XVI, 8).

Selbst wenn mit der hesperetinhaltigen Lösung das Keimbett befeuchtet wurde, wirkte es nicht wesentlich nachteiliger, als wenn die Quellungsflüssigkeit dekantiert wurde (XV, 14, 15).

Baptisin $C_{26}H_{32}O_{14} + 9\,H_2O$.

$^1/_{500}$ Mol Baptisin pro 1 l Wasser, bzw. eine kalt gesättigte Lösung (es blieb viel ungelöst) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken, Weizen und Raps etwas herab, die Entwickung der Stengel war verzögert, das Wurzelsystem sehr geschädigt (XVI, 8).

Von den Glucosiden dieser Gruppe: Arbutin, Phloridzin, Hesperidin und Baptisin hat Arbutin am wenigsten, Baptisin dagegen am meisten die Keimung der Versuchssamen beeinträchtigt. Während Baptisin trotz der großen Verdünnung der wirksamen Lösung für den Keimling ein ziemlich starkes Gift war, erwies sich Baptisin für Tiere, speziell Frösche, als nicht giftig.

Spaltprodukte der Glucoside und verwandte Stoffe.

Phenole.

Carbolsäure, Phenol C_6H_5OH.

$^1/_{20}$ Mol Carbolsäure pro 1 l Wasser (0,47 %) tötete die Keimlinge der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps (XVII, 2).

$^1/_{40}$ Mol Carbolsäure pro 1 l Wasser (0,235 %) setzte die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps wesentlich herab, die Keimprozente waren bei Wicken und Weizen relativ weniger, bei Raps stärker herabgedrückt, in der weiteren Entwicklung trat eine starke Verzögerung auf (XVIII, 2).

$^1/_{40}$ Mol Carbolsäure pro 1 l Wasser (0,235 %) wirkte sodann auf Wicken, Gerste und weißen Senf. Bei Wicken wurde die Keimungsenergie herabgesetzt, die Keimprozente dagegen weniger beeinflußt, bei Gerste und weißem Senf wurden beide geschädigt, in der weiteren Entwicklung blieben sämtliche Versuchssamen sehr zurück und verkümmerten zum Teil.

Es wurde weiter untersucht, ob Calciumsaccharat, das

bei Vergiftungen mit Phenol als Gegenmittel Anwendung findet, nicht auch beim Keimen von Samen die Giftwirkung der Carbolsäure herabzusetzen vermag. Zu diesem Behufe wurden die Versuchssamen (Wicken, Gerste und weißer Senf) mit reinem Wasser und mit einer 0,2 %igen Calciumsaccharatlösung[1]) vorgequellt und dann mit je $^1/_{40}$ Mol Carbolsäure pro 1 l Wasser durch 24 Stunden behandelt und zur Keimung aufgestellt. Es ergab sich tatsächlich eine zum Teil entgiftende Wirkung des Calciumsaccharats, indem die Keimungsenergie insbesondere bei Wicken und die Keimprozente bei allen Versuchssamen erhöht wurden, auch im weiteren Verlauf des Keimungsprozesses zeigte sich ein relativ üppigeres Wachstum (XIX, 3, 4).

$^1/_{50}$ Mol Carbolsäure pro 1 l Wasser (0,188 %) hat insbesondere die Keimungsenergie, weniger die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps herabgesetzt; die Entwicklung der Wurzeln und Stengel wurde sehr geschädigt (XX, 2).

Brenzkatechin, Orthodioxybenzol $C_6H_4(OH)_2$.

$^1/_{10}$ Mol Brenzkatechin pro 1 l Wasser (1,1 %) wirkte letal auf die Keimlinge der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps.

$^1/_{20}$ Mol Brenzkatechin pro 1 l Wasser (0,55 %) verminderte wesentlich die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen (Wicken, Weizen und Raps) und schädigte auch bedeutend die Weiterentwicklung der Keimlinge (XVII, 3).

$^1/_{40}$ Mol Brenzkatechin pro 1 l Wasser (0,275 %) hat ebenfalls, wenn auch in etwas geringerem Maße, die Keimungsenergie, die Keimprozente und das Wachstum der Keimpflanzen der Wicken, Weizen und Rapssamen geschädigt (XVIII, 3).

Eine Vorquellung der Samen mit einer 0,2 %igen Calciumsaccharatlösung hat die Giftwirkung des Brenzkatechins auf Wicken, Gerste und weißen Senf vermindert; die entgiftende Wirkung des Calciumsaccharats äußerte sich in einer Erhöhung der Keimungsenergie, zum Teil auch der Keimprozente und in einem beschleunigteren Wachstum der Wurzeln und Stengel der Keimpflanzen (XIX, 5, 6). Die Versuchsanordnung war ähnlich wie bei dem analogen Versuch mit Carbolsäure (S. 341).

[1]) Calcium saccharatum album pulv. Merck.

$^1/_{50}$ Mol. Brenzkatechin pro 1 l Wasser (0,22 %) hat insbesondere die Keimungsenergie, weniger die Keimprozente bei Wicken, Weizen und Raps herabgesetzt, im Wachstum blieben namentlich die Wicken zurück, aber auch Weizen und Raps wurden verzögert (XX, 3).

$^1/_{75}$ Mol Brenzkatechin pro 1 l Wasser (0,146 %) hat bei Wicken und Raps die Keimungsenergie geschwächt, aber auch die Keimprozente vermindert und das Wachstum verzögert; Weizen wurde weniger affiziert (XXI, 2).

Resorcin, Metadioxybenzol $C_6H_4(OH)_2$.

$^1/_{10}$ Mol Resorcin pro 1 l Wasser (1,1 %) tötete die Keimlinge der Wicken, Weizen und Rapssamen.

$^1/_{20}$ Mol Resorcin pro 1 l Wasser (0,55 %) verhinderte durch 8 Tage die Keimung sämtlicher Wicken, Weizen und Rapssamen, erst am 10. Versuchstage begannen einige Samen (insbesondere Raps) zu keimen, verkümmerten aber alsbald (XVII, 4).

$^1/_{40}$ Mol Resorcin pro 1 l Wasser (0,275 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken, Weizen und Raps herab und verzögerte das Wachstum der Keimpflanzen (XVII, 4).

$^1/_{50}$ Mol. Resorcin pro 1 l Wasser (0,22 %) verminderte die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps, die Keimprozente wurden mit Ausnahme von Weizen weniger benachteiligt, dagegen wurde die weitere Entwicklung der Keimpflanzen geschädigt (XX, 4).

$^1/_{75}$ Mol Resorcin pro 1 l Wasser (0,146 %) hat ebenfalls noch die Keimungsenergie der Wicken, Weizen und Rapssamen herabgesetzt, die Keimprozente selbst wurden wenig beeinflußt, in der Entwicklung blieben die Versuchssamen im Vergleich zum Kontrollversuch zurück (XXI, 3).

Hydrochinon, Paradioxybenzol $C_6H_4(OH)_2$.

$^1/_{10}$ Mol Hydrochinon pro 1 l Wasser (1,1 %) verhinderte durchweg die Keimung von Wicken, Weizen und Raps.

$^1/_{20}$ Mol Hydrochinon pro 1 l Wasser (0,55 %). Die Keimungsenergie, die Keimprozente und das Wachstum der Keimpflanzen von Wicken, Weizen und Raps wurden sehr geschädigt (XVII, 5).

$^1/_{40}$ Mol Hydrochinon pro 1 l Wasser (0,275 %) setzte die Keimungsenergie der Wicken, Weizen und Rapssamen herab, die Keimprozente wurden bei Wicken fast gar nicht, bei Weizen und Raps zum Teil vermindert, das Wachstum der Keimpflanzen wurde verzögert (XVIII, 5).

$^1/_{50}$ Mol Hydrochinon pro 1 l Wasser (0,22 %) war ohne Einwirkung auf die Keimungsenergie und Keimprozente der Wicken, bei Weizen und Raps wurde nur die Keimungsenergie, nicht aber die Keimprozente herabgesetzt, in der Entwicklung blieben sämtliche Versuchssamen zurück (XX, 5).

$^1/_{75}$ Mol Hydrochinin pro 1 l Wasser (0,146 %) bewirkte nur bei Weizen eine Herabsetzung der Keimungsenergie, nicht aber bei Wicken und Raps, die Keimprozente waren bei allen Versuchssamen nahezu normal, das Wachstum der Keimpflanzen wurde verzögert (XXI, 4).

Im Vergleich zu Arbutin ist seine Nichtzuckerkomponente, das Hydrochinon, für die Keimung wesentlich giftiger.

Pyrogallol, vizinales Trioxybenzol $C_6H_3(OH_3)$.

$^1/_{10}$ Mol Pyrogallol pro 1 l Wasser (1,26 %) wirkte tödlich auf die Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps.

$^1/_{20}$ Mol Pyrogallol pro 1 l Wasser (0,63 %) setzte die Keimungsenergie der Versuchssamen (Wicken, Weizen und Raps) bedeutend herab; erst am 7. Versuchstage traten bei einigen Samen Keimungserscheinungen auf, die Keimprozente stiegen dann bis zum 14. Versuchstage auf 8 % Wicken, 46 % Weizen und 54 % Raps gegen 96 %, 90 % bzw. 92 % normal, die Keimpflänzchen blieben aber in ihrer Entwicklung sehr zurück (XVII, 6).

$^1/_{40}$ Mol Pyrogallol pro 1 l Wasser (0,315 %) verminderte die Keimungsenergie insbesondere bei Wicken und Raps, die Keimprozente wurden mit Ausnahme der Wicken weniger beeinträchtigt; in der Entwicklung blieben hauptsächlich die Wicken stark zurück, weniger Weizen und Raps (XVIII, 6).

$^1/_{50}$ Mol Pyrogallol pro 1 l Wasser (0,252 %) schwächte die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps, die Keimprozente wurden weniger affiziert, am meisten bei Wicken, am wenigsten bei Weizen; das Wachstum der Keimpflanzen wurde benachteiligt (XX, 6).

$^1/_{75}$ Mol Pyrogallol pro 1 l Wasser (0,168 %) hat die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps herabgesetzt, die Keimprozente dagegen weniger beeinflußt; das Wachstum der Stengel war bei allen Versuchssamen verzögert, das Wurzelsystem geschwächt (XXI, V).

Phloroglucin, symmetrisches Trioxybenzol $C_6H_3(OH_3)$.

$^1/_{15}$ Mol Phloroglucin pro 1 l Wasser (1,1 %) verhinderte die Keimung von Raps fast vollständig, die Wicken wurden in der Keimungsenergie, in den Keimprozenten und in der weiteren Entwicklung der Wurzeln und Stengel sehr geschädigt, relativ geringer war die Schädigung bei Weizen.

$^1/_{20}$ Mol Phloroglucin pro 1 l Wasser (0,81 %) bewirkte eine starke Herabsetzung der Keimungsenergie bei Wicken und Raps, bei Weizen in geringerem Maße, die Keimprozente selbst wurden bei Wicken und Weizen wenig beeinflußt, bei Raps dagegen stark vermindert; in der weiteren Entwicklung wurde Raps am meisten geschädigt, Wicken weniger und Weizen am wenigsten (XVII, 7).

$^1/_{40}$ Mol Phloroglucin pro 1 l Wasser (0,405 %) hat insbesondere die Keimungsenergie der Rapssamen geschwächt und ihr Wachstum verzögert, Wicken und Weizen wurden weniger benachteiligt (XVIII, 7).

$^1/_{50}$ Mol Phloroglucin pro 1 l Wasser (0,324 %) war ohne Einwirkung auf die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken und Weizen, dagegen wurden beide bei Raps geschädigt; eine Verzögerung im Wachstum machte sich bei allen Versuchssamen bemerkbar, am geringsten bei Weizen, am größten bei Raps (XX, 7).

$^1/_{75}$ Mol Phloroglucin pro 1 l Wasser (0,216 %) wirkte ähnlich wie $^1/_{50}$ Mol, doch war die Schädigung derselben Versuchssamen geringer, insbesondere erschien Raps viel weniger affiziert (XXI, 6).

Die Giftigkeit der Phenole für die Keimung der Versuchssamen nahm in folgender Reihenfolge zu: Phloroglucin, Hydrochinon, Pyrogallol, Resorcin, Brenzcatechin, Carbolsäure.

Es wurde weiterhin noch untersucht, ob nicht eventuell Zucker die Giftwirkung der Phenole auf die Keimung herabsetzen könnte, indem es vielleicht innerhalb der Pflanzenzelle

zur Bildung einer minder schädlichen esterartigen Verbindung des Zuckers mit dem betreffenden Phenol käme. Diesbezügliche Versuche mit Traubenzucker und mit Rohrzucker hatten einen negativen Erfolg, dagegen ergab die stärkeverzuckernde Diastase teilweise positive Resultate.

Die Versuchsanordnung war folgende: Die Samen wurden einerseits mit reinem Wasser, andererseits mit einer 0,1 bis 0,2 %igen Diastaselösung[1]) 10 bis 24 Stunden vorgequellt und dann erst wirkten die Phenole ($^1/_{50}$ oder $^1/_{75}$ Mol pro 1 l Wasser) auf die Samen ein. Zur Kontrolle wurden die Samen nur mit reinem Wasser und mit Diastaselösung allein gequellt und dann zur Keimung aufgestellt; der Keimungsprozeß verlief in beiden Fällen nahezu gleich, insbesondere konnte eine günstige Wirkung der Diastase weder auf die Keimungsenergie und die Keimprozente, noch auf das Wachstum der Keimpflanzen beobachtet werden. Dagegen ergaben die Versuche, daß die Phenole auf den Keimungsprozeß der mit Diastase vorgequellten Samen weniger schädlich wirken als auf die Keimung jener Samen, die mit reinem Wasser vorgequellt wurden. Die günstige Wirkung der Diastase konnte bei Hydrochinon, Pyrogallol, Phloroglucin und zum Teil auch bei Brenzcatechin wahrgenommen werden, nicht aber bei der Carbolsäure und beim Resorcin. Die entgiftende Wirkung der Diastase auf die genannten Phenole äußerte sich insbesondere durch ein beschleunigteres Wachstum der Stengel und ein kräftiger entwickeltes Wurzelsystem der Keimpflanzen bei den mit Diastase vorgequellten Samen im Vergleich zu denjenigen, die mit reinem Wasser vorgequellt wurden.

Chinon, Benzochinon $C_6H_4O_2$.

$^1/_{50}$ Mol Chinon pro 1 l Wasser (0,216 %) hat die Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps sehr geschädigt; Weizen keimte überhaupt nicht, Raps nur 6 % und diese verkümmerten; von Wicken keimten insgesamt 65 % (normal 95 %), bei 15 % kam es gar nicht mehr zur Stengelbildung, bei 51 % war die Entwicklung der Stengel sehr verzögert, auch das Wurzelsystem war durchweg geschädigt (XXIV, 2).

[1]) Die Diastase wurde von E. Merck in Darmstadt bezogen.

Glucoside, die bei der hydrolytischen Spaltung Alkohole geben.

Salicin $C_{13}H_{18}O_7$.

$^1/_{100}$ Mol Salicin pro 1 l Wasser (0,286 $^0/_0$) verzögerte ein wenig den Keimungsprozeß der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps (XXII, 2). Dieselbe Konzentration, aber die Quellungsflüssigkeit nicht dekantiert, sondern damit das Keimbett befeuchtet, ergab in bezug auf die Keimungsenergie und die Keimprozente keine wesentliche Beeinflussung; in der weiteren Entwicklung wurde bei allen Versuchssamen eine geringe Verzögerung beobachtet (XXIII, 3).

$^1/_{50}$ Mol Salicin pro 1 l Wasser (0,572 $^0/_0$). Keimungsenergie und Keimprozente waren bei Wicken, Gerste und Raps nahezu normal, die Entwicklung der Wurzeln und Stengel wurde nur in geringem Maße beeinträchtigt (XXIV, 3).

Populin, Monobenzoylsalicin $C_{20}H_{22}O_8 + 2H_2O$.

Wegen der Schwerlöslichkeit des Populins in Wasser wurde eine bei 15^0 gesättigte Lösung angewandt, dieselbe enthielt rund $^1/_{1000}$ Mol Populin pro 1 l Wasser (0,04 $^0/_0$). Abgesehen von einer verzögernden Wirkung verlief der Keimungsprozeß bei Wicken, Gerste und Raps nahezu normal (XXII, 3); dasselbe konnte auch beobachtet werden, wenn das Keimbett mit der gesättigten Lösung des Populins befeuchtet wurde (XXIII, 3).

Coniferin $C_{16}H_{22}O_8 + 2H_2O$.

$^1/_{100}$ Mol Coniferin pro 1 l Wasser (0,378 $^0/_0$) bewirkte nur eine geringe Verzögerung in der Entwicklung der Wurzeln und Stengel bei Wicken, Gerste und Raps, ohne den Keimungsprozeß wesentlich zu schädigen (XXII, 7). Ähnlich wirkte Coniferin auf dieselben Versuchssamen, wenn bei gleicher Konzentration das Keimbett mit der Coniferinlösung befeuchtet wurde (XXIII, 7).

In gespaltenem Zustand war das Coniferin schädlicher für die Keimung, wie der folgende Versuch zeigte. Da mir das hydrolytische Spaltprodukt des Coniferins, der Coniferylalkohol, nicht zur Verfügung stand, ließ ich auf Coniferin Emulsin unter Zusatz von Chloroform als Antisepticum einige Tage einwirken; nach erfolgter Hydrolyse wurde gekocht und filtriert. Um vollkommen gleiche Versuchsbedingungen zu erhalten, wurde eine gleiche Menge Emulsin vorher durch Kochen un-

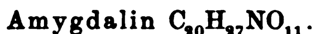
wirksam gemacht und mit einer gleichen Menge Coniferin zusammengebracht, dann ebenfalls gekocht und filtriert. Beide Lösungen wirkten durch 24 Stunden auf Erbsen ein, außerdem wurde ein dritter Versuch, wobei Wasser allein auf die Erbsen einwirkte, ausgeführt. Die Versuche ergaben, daß das gespaltene Coniferin auf die Keimung toxischer wirkte als das ungespaltene, indem bei ersterem sowohl die Keimungsenergie mehr herabgesetzt wurde als auch das Wachstum stärker verzögert wurde, als bei dem nicht gespaltenen Coniferin. Wahrscheinlich ist die größere Giftigkeit des gespaltenen Coniferins durch sein Spaltprodukt, den Coniferylalkohol, hervorgerufen worden.



Syringin $C_{17}H_{24}O_9 + H_2O$.

$^1/_{100}$ Mol Syringin pro 1 l Wasser (0,39 $^0/_0$) war ohne Nachteil für die Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps (XXII, 8); auch wenn das Keimblatt mit einer gleich konzentrierten Lösung von Syringin befeuchtet wurde, ist der Keimungsprozeß nicht wesentlich benachteiligt worden (XXIII, 8).

Glucoside, die bei der hydrolytischen Spaltung Aldehyde geben.



Amygdalin $C_{20}H_{27}NO_{11}$.

$^1/_{200}$ Mol Amygdalin pro 1 l Wasser (0,228 $^0/_0$) setzte die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps etwas herab; die Keimprozente selbst wurden weniger beeinflußt, das Wachstum wurde etwas verzögert (XXV, 2). $^1/_{100}$ Mol Amygdalin pro 1 l Wasser (0,457 $^0/_0$) wirkte auf dieselben Versuchssamen ähnlich, nur war die Verzögerung in der Entwicklung der Keimpflanzen eine etwas größere (XXV, 3).

$^1/_{50}$ Mol Amygdalin pro 1 l Wasser (0,914 $^0/_0$) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente insbesondere bei Weizen und Raps, weniger bei Wicken herabgesetzt, die Entwicklung der Wurzeln und Stengel wurde verlangsamt (XXV, 4).

Die nachfolgend beschriebenen Versuche machen es sehr wahrscheinlich, daß die Intensität der Giftwirkung des Amygdalins auf die Keimung außer von der Menge auch von der mehr oder weniger weitgehenden Spaltung desselben während der Quellung und Keimung abhängt; je weitgehender die Spaltung erfolgt ist, desto giftiger wirkt das Amygdalin auf die

Keimung. Die Hydrolyse des Amygdalins in seine Spaltprodukte dürfte hierbei durch Mikroorganismen hervorgerufen werden, wie dies ebenfalls die folgenden Versuche wahrscheinlich machen.

In drei Erlenmeyer-Kolben wurden die Versuchssamen Erbsen, Weizen und Raps zur Quellung und dann zur Keimung aufgestellt. Im ersten Kolben wirkte Wasser allein auf die Samen ein, in den beiden anderen je eine 0,25 %ige Lösung von Amygdalin, jedoch mit dem Unterschiede, daß in dem einen, zuvor sterilisierten Kolben die Samen vorher möglichst schnell[1]) mit sterilisiertem Wasser gewaschen, rasch zwischen Filtrierpapier getrocknet und mit der Amygdalinlösung zusammengebracht wurden (zum Lösen des Amygdalins wurde ebenfalls sterilisiertes Wasser verwendet); der Kolben wurde dann sofort wieder mit dem Wattestopfen verschlossen. Im dritten, nicht sterilisierten Kolben war die Versuchsanordnung dieselbe, nur wurden die Samen nicht gewaschen und das Wasser nicht sterilisiert. Um vollkommen gleiche Versuchsbedingungen zu erzielen, wurden die beiden anderen Kolben auch mit gleichgroßen Wattestopfen verschlossen; es wurde überhaupt genau darauf geachtet, daß die Keimungsprozesse in allen drei Kolben unter ganz gleichartigen Bedingungen verlaufen.

Die Versuche ergaben, daß im sterilen Kolben die mit Amygdalin behandelten Samen früher und zahlreicher keimten als die unter sonst gleichen Versuchsbedingungen stehenden Samen im nichtsterilen Kolben; auch in der weiteren Entwicklung zeigten insbesondere Wicken und Weizen im sterilen Kolben ein lebhafteres Wachstum als im nichtsterilen Kolben. Im Vergleich zum Kontrollversuch, bei dem die Samen mit Wasser allein behandelt wurden, verlief die Keimung der mit Amygdalin behandelten Samen im sterilen Kolben nahezu gleich, während der Keimungsprozeß im nichtsterilen Kolben in bezug auf die Keimungsenergie und das Wachstum der Keimpflanzen eine deutliche Benachteiligung aufwies.

Helicin, Glucosesalicylaldehyd $C_{13}H_{16}O_7$.

$^1/_{100}$ Mol Helicin pro 1 l Wasser (0,284 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps etwas herab, auch in der weiteren Entwick-

[1]) Um eine Vorquellung der Samen zu vermeiden.

lung trat eine Verzögerung ein (XXII, 4). Wurde die gleich konzentrierte Lösung nicht dekantiert, sondern damit das Keimblatt befeuchtet, so wurden dieselben Versuchssamen, wie im vorigen Versuch, viel stärker geschädigt. In erster Linie Raps, der bis zum 4. Versuchstage überhaupt nicht keimte; erst am 5. Versuchstage keimten 4 % und am 7. 26 % (gegen 94 % normal), und diese verkümmerten alsbald; auch bei Gerste wurden die Keimungsenergie, die Keimprozente (es keimten insgesamt nur 47 % gegen 92 % normal) als auch die weitere Entwicklung der Keimpflanzen wesentlich geschädigt; die Wicken wurden weniger in den Keimprozenten, als insbesondere im Wachstum stark benachteiligt (XXIII, 4). Salicin hat unter denselben Versuchsbedingungen dieselben Versuchssamen nur wenig beeinflußt (XXIII, 2).

$^1/_{50}$ Mol Helicin pro 1 l Wasser (0,568 %) wirkte stark toxisch; es keimten insgesamt nur 14 % Gerste und 30 % Raps, gegen 84 % bzw. 94 % beim Kontrollversuch; bei den Wicken war insbesondere die Keimungsenergie vermindert, die Keimprozente wurden weniger beeinflußt; in der weiteren Entwicklung wurden sämtliche Versuchssamen sehr geschädigt (XXIV, 4). Salicin in äquimolekularer Lösung hat auch hier dieselben Versuchssamen viel weniger affiziert (XXIV, 2). Helicin oder Glucosesalicylaldehyd ist mithin für die Keimung von Samen viel giftiger als Salicin oder Glucosesalicylalkohol.

Oxycumaringlucoside.


Äsculin $C_{15}H_{16}O_9 + 2H_2O$.

Wegen seiner Schwerlöslichkeit in Wasser wurde das Äsculin in Form einer kalt gesättigten Lösung angewandt, die rund $^1/_{250}$ Mol Äsculin pro 1 l Wasser (0,15 %) enthielt. Sie hat die Keimungsenergie, die Keimprozente und das Wachstum bei Wicken, Weizen und Raps nur wenig beeinflußt; verhältnismäßig am meisten wurde die Entwicklung der Wurzeln benachteiligt (XXV, 5). Größer war die Schädigung, wenn mit der gleich konzentrierten Lösung das Keimbett befeuchtet wurde. Die Keimungsenergie und die Keimprozente wurden insbesondere bei Gerste und Raps herabgesetzt, bei Wicken fast gar nicht; in der weiteren Entwicklung dagegen wurden sämtliche Versuchssamen sehr geschädigt, das Wurzelsystem war durchaus

verkümmert, das Wachstum der Stengel blieb gegen den Kontrollversuch sehr zurück (XXVI, 7).

Senfölglucoside.

Sinigrin, myronsaures Kalium $C_{10}H_{16}NS_2KO_9 + H_2O$.

$^1/_{50}$ Mol Sinigrin pro 1 l Wasser (0,83 %) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Weizen, weißen und schwarzen Senfsamen fast gar nicht beeinflußt; im Wachstum blieben nur die Wicken ein wenig zurück, Weizen und weißer Senf entwickelten sich normal (XXX, 2).

Während Sinigrin in einer Konzentration von $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser auf die Keimungsenergie und die Keimprozente der ein schlechtes Keimvermögen besitzenden schwarzen Senfsamen keinen Einfluß hatte, wirkte eine verdünntere Lösung, und zwar $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser (0,415 %), beschleunigend auf die Keimungsenergie und auf das Wachstum der Keimpflanzen ein. Die Keimprozente beim Kontrollversuch blieben in den ersten fünf Versuchstagen wesentlich hinter den mit Sinigrin behandelten Samen zurück; erst vom 8. Versuchstage ab waren die Keimprozente bei beiden ungefähr gleich. Die Keimpflanzen der durch Sinigrin beeinflußten Samen waren kräftiger entwickelt als beim Kontrollversuch; es waren nicht nur die Stengel länger, sondern auch die Wurzeln entwickelten sich stärker, was sich auch schon dadurch zu erkennen gab, daß die Zahl der aufrechten Stengel wesentlich größer war als beim Kontrollversuch (XXXI, 1, 2).

Glucoside mit unbekannter Konstitution der Aglykone.

Convallarin $C_{34}H_{62}O_{11}$.

$^1/_{646}$ Mol pro 1 l Wasser (0,1 %) bzw. eine kalt gesättigte Lösung, da sich nicht alles löste, setzte die Keimungsenergie bei Weizen und Raps etwas herab und verzögerte die weitere Entwicklung der Keimpflanzen.

Helleborein.

Eine 0,2 %ige Helleboreinlösung hat die Keimungsenergie und die Keimprozente der Wicken-, Weizen- und Rapssamen vermindert und die Entwicklung der Wurzeln und Stengeln geschädigt, eine 0,4 %ige Lösung zeigte diese Schädigungen in erhöhtem Maße.

Die schädliche Wirkung des Helleboreins auf die Keimung von Samen steht in Übereinstimmung mit seiner Wirkung auf Tiere, für die es ebenfalls ein Gift ist.

Bryonin.

In 0,2 % iger Lösung bewirkte Bryonin eine geringe Herabsetzung der Keimungsenergie und der Keimprozente und eine schwache Verzögerung im Wachstum; eine 0,4 % ige Lösung wirkte nur wenig nachteiliger als die vorige Konzentration. Im Vergleich zu Helleborein ist es in gleichprozentiger Lösung weniger nachteilig.

Strophantin Merck.

Unter Zugrundelegung der Formel $C_{38}H_{58}O_{15}$ schädigte $^{1}/_{50}$ Mol Strophantin Merck pro 1 l Wasser die Keimung von Wicken, Gerste und Raps, insbesondere wurden die Wurzeln affiziert, die schließlich mehr oder weniger verkümmerten (XXIV, 8). Strophantin ist bekanntlich auch für Tiere giftig, insbesondere ist es ein starkes Herzgift.

Digitalin Merck.

Unter Annahme der Formel $C_{35}H_{56}O_{14}$ wurde eine Lösung von $^{1}/_{700}$ Mol Digitalin Merck pro 1 l Wasser (0,1 %) angewandt. Die Versuchssamen Wicken und Gerste wurden nur in geringem Maße benachteiligt (XV, 6).

Digitalein.

Digitalein hat in gleicher Konzentration wie Digitalin (0,1 %) dieselben Versuchssamen nahezu gar nicht beeinflußt (XV, 7).

Digitalein war für die Keimung von Samen weniger giftig als Digitalin. Auch für Tiere ist Digitalein ein etwas schwächeres Herzgift als Digitalin. Doch sind beide für Tiere relativ viel giftiger als für Pflanzen bzw. für die Keimung.

Saponine.

Saponin[1]).

$^{1}/_{350}$ Mol Saponin pro 1 l Wasser (0,12 %) unter Zugrundelegung der Formel $C_{19}H_{30}O_{10}$ hat von den Versuchssamen Wicken und Gerste insbesondere die letztere benachteiligt, indem die

[1]) Saponin puriss. Merck.

Keimungsenergie und die Keimprozente vermindert und das Wachstum verzögert wurden (XV, 8).

Sapogenin.

Sapogenin wirkte in äquimolekularer Lösung mit Saponin auf dieselben Versuchssamen ähnlich ein, nur wurde Gerste etwas weniger affiziert; wurde mit der Sapogeninlösung das Keimbett befeuchtet, so war die Benachteiligung etwas größer (XV, 9, 10).

Sapotoxin.

Sapotoxin hat in einer Konzentration von 0,04 % die Versuchssamen Wicken und Gerste nur wenig beeinflußt (XV, 11).

Künstliche Glucoside.

Methylglucoside $C_7H_{14}O_6$.

α-Methyl-d-Glucosid und β-Methyl-d-Glucosid haben in äquimolekularen Lösungen, und zwar $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, die Keimung von Wicken, Weizen und Raps nur in geringem Grade benachteiligt; ein wesentlicher Unterschied in der Wirkung konnte nicht beobachtet werden (XXIV, 6, 7).

Anhang. Bitterstoffe.

Aloin $C_{17}H_{18}O_7 + {}^1/_2$ aq.

$^1/_{50}$ Mol Aloin pro 1 l Wasser (0,686 %) wirkte auf die Entwicklung der Stengel der Wicken-, Gersten- und Rapssamen etwas verzögernd ein, stärker wurde das Wurzelsystem geschädigt (XXIV, 9).

Pikrotoxin.

Unter Zugrundelegung der Formel $C_{30}H_{34}O_{13}$ wurde $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser (1,2 %) bzw. eine kalt gesättigte Lösung, da sich nicht alles löste, angewandt. Sie schädigte die Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps viel heftiger als Aloin; das Wachstum der Stengel war sehr verzögert, namentlich bei Wicken und Raps, die Wurzeln durchaus verkümmert (XXIV, 10).

Aromatische Alkohole, Aldehyde und deren Derivate.

Saligenin, Salicylalkohol, Orthooxybenzalkohol



$C_6H_4OH \cdot CH_2OH$.

$^1/_{50}$ Mol Saligenin pro 1 l Wasser (0,248 %) schwächte die Keimungsenergie bei Weizen und Raps, nicht aber bei Wicken,

die Keimprozente wurden nicht beeinflußt, das Wachstum war verzögert (XXVII, 4).

Das Saligenin wirkte im Vergleich zu seiner Glucoseverbindung, dem Salicin, in äquimolekularer Lösung ein wenig nachteiliger auf die Keimung ein.

Salicylaldehyd, Orthooxybenzaldehyd $C_6H_4OH.CHO$.

$^1/_{50}$ Mol Salicylaldehyd pro 1 l Wasser (0,244 %) wirkte ungleich schädlicher als die äquimolekulare Menge Saligenin auf dieselben Versuchssamen ein. Am dritten Versuchstage keimten nur 10 % Wicken, kein Weizen und kein Raps gegen 93 % Wicken, 90 % Weizen und 89 % Raps beim Kontrollversuch; das Maximum der Keimprozente betrug 85 % Wicken, 9 % Weizen und 35 % Raps (normal 95, 96 bzw. 93 %). Die Entwicklung der Wurzeln und Stengel war sehr geschädigt (XXVII, 5).

Benzaldehyd, Bittermandelöl $C_6H_5.CHO$.

$^1/_{50}$ Mol Benzaldehyd pro 1 l Wasser (0,212 %) wirkte weniger toxisch als die äquimolekulare Menge Salicylaldehyd auf dieselben Versuchssamen ein. Am dritten Versuchstage keimten 91 % Wicken, 15 % Weizen und 65 % Raps, die Maximalkeimprozente betrugen 91 % Wicken, 85 % Weizen und 87 % Raps (gegen 95, 96 bzw. 93 % normal). Auch die Verzögerung im Wachstum war bei Benzaldehyd geringer als bei Salicylaldehyd (XXVII, 6).

$^1/_{30}$ Mol Benzaldehyd pro 1 l Wasser (0,35 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente wesentlich herab, am dritten Tage keimten nur 8 % Wicken, kein Weizen und 4 % Raps gegen 80 % Wicken, 87 % Weizen und 90 % Raps beim Kontrollversuch. Die Keimprozente betrugen am 13. Versuchstage 88 % Wicken, 20 % Weizen und 84 % Raps gegen 95, 95 bzw. 93 % normal. Die Verzögerung im Wachstum war bei Wicken und Raps relativ gering, größer dagegen bei Weizen.

$^1/_{20}$ Mol Benzaldehyd pro 1 l Wasser (0,53 %) wirkte analog wie $^1/_{30}$ Mol, aber heftiger auf dieselben Versuchssamen ein; am 3. Versuchstage keimten überhaupt keine Samen, die Maximalkeimprozente betrugen am 13. Versuchstage 72 % Wicken, 0 % Weizen und 40 % Raps (normal 95, 95 bzw. 93 %). Das Wachstum der Wurzeln und Stengel war mehr oder weniger verkümmert.

Vanillin, Methyläther des Protocatechualdehyds

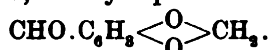


$C_6H_3.OCH_3.OH.CHO.$

$^1/_{100}$ Mol Vanillin pro 1 l Wasser (0,152 $^0/_0$) schwächte die Keimungsenergie und verminderte die Keimprozente bei Wicken, Gerste und Raps; das Wachstum der Wurzeln und Stengel wurde verzögert (XXII, 5). Wurde mit der gleich konzentrierten Vanillinlösung das Keimbett befeuchtet, so war die Schädigung des Keimprozesses bei denselben Versuchssamen eine viel größere (XXIII, 5).

$^1/_{50}$ Mol Vanillin pro 1 l Wasser (0,304 $^0/_0$) setzte die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps wesentlich herab, die Keimprozente waren nur bei Gerste stark vermindert, bei Wicken und Raps dagegen nur unbedeutend; die Entwicklung der Stengel und noch mehr der Wurzeln wurde geschädigt (XXIV, 5).

Piperonal, Methylenprotocatechualdehyd



$CHO.C_6H_3{<}{}^{O}_{O}{>}CH_2.$

$^1/_{100}$ Mol Piperonal pro 1 l Wasser (0,15 $^0/_0$) hat die Keimungsenergie und die Keimprozente insbesondere bei Gerste und Raps, weniger bei Wicken herabgesetzt; das Wachstum der Stengel wurde verzögert, die Entwicklung der Wurzeln sehr geschädigt (XXII, 6). Es wirkte toxischer auf die Versuchssamen als eine äquimolekulare Lösung von Vanillin.

Wurde die Quellungsflüssigkeit mit der gleichen Menge Piperonal ($^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser) nicht dekantiert, sondern damit das Keimbett befeuchtet, so wurden sämtliche Keimlinge der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps getötet, es keimte selbst nach 11 Tagen noch kein Samen; bei Vanillin dagegen keimten unter denselben Versuchsbedingungen bis zum 7. Versuchstage 88 $^0/_0$ Wicken, 40 $^0/_0$ Gerste und 80 $^0/_0$ Raps (XXIII, 5, 6).

Das Piperonal ist demnach giftiger für die Keimung als eine äquivalente Menge Vanillin.

Aromatische Säuren. Gerbstoffe.

Benzoesäure $C_6H_5.COOH.$

$^1/_{200}$ Mol Benzoesäure pro 1 l Wasser (0,061 $^0/_0$) wirkte auf die Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps schädlich ein, die Keimungsenergie und die Keimprozente wurden wesentlich herabgesetzt und das Wachstum sehr verzögert (XXVI, 2).

$^1/_{50}$ Mol Benzoesäure pro 1 l Wasser (0,244 %) wirkte letal auf die Keimlinge der Wicken, Weizen und Rapssamen (XXVII, 2).

Salicylsäure, Orthooxybenzoesäure $C_6H_4OH.COOH$.

$^1/_{200}$ Mol Salicylsäure pro 1 l Wasser (0,069 %) erwies sich als sehr giftig für die Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps. Am 4. Versuchstage keimte noch kein einziger Samen; erst am 6. Versuchstage keimten 7 % Wicken und 7 % Raps, aber keine Gerste, gegen 92 % Wicken, 93 % Raps und 91 % Gerste beim Kontrollversuch, die Keimprozente stiegen nur bei Wicken auf 10, sonst blieben sie stationär. Die wenigen Keimpflanzen blieben in ihrer Entwicklung sehr zurück (XXVI, 3). Im Vergleich zu der äquimolekularen Menge Benzoesäure wirkte die Salicylsäure toxischer auf die Keimung ein.

$^1/_{50}$ Mol Salicylsäure pro 1 l Wasser (0,276 %) verhinderte die Keimung der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps selbst am 10. Versuchstage noch (XXVII, 3).

Zimtsäure $C_6H_5.CH{=}CH.COOH$.

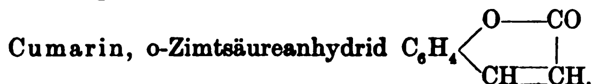
$^1/_{250}$ Mol Zimtsäure pro 1 l Wasser (0,059 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken, Weizen und Raps wesentlich herab, am 3. Versuchstage keimten 39 % Wicken, 0 % Weizen und 41 % Raps gegen 90, 89 bzw. 87 % beim Kontrollversuch, die Keimprozente erreichten am 6. Versuchstage 73 % bei Wicken, 64 % bei Weizen und 82 % bei Raps (normal 96, 92 bzw. 91 %); das Wachstum der Keimpflanzen war durchweg verzögert (XXV, 8).

Wurde mit einer $^1/_{200}$ Mol Zimtsäure pro 1 l Wasser enthaltenden Quellungsflüssigkeit (nicht vollständig gelöst) das Keimbett befeuchtet, so sind die Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps sehr geschädigt worden; es keimten insgesamt nur 21 % Wicken, 0 % Gerste und 34 % Raps gegen 94 % Wicken, 92 % Gerste und 94 % Raps beim Kontrollversuch. Die Keimpflanzen wurden in ihrer Entwicklung wesentlich beeinträchtigt (XXVI, 8).

Orthocumarsäure, o-Oxyzimtsäure
$C_6H_4(OH).CH{=}CH.COOH$.

$^1/_{50}$ Mol Cumarsäure pro 1 l Wasser bzw. eine kaltgesättigte Lösung (es löste sich nicht alles auf) setzte die Keimungsenergie und die Keimungsprozente bei Wicken, Weizen und Raps wesentlich herab, am 3. Versuchstage keimten 2 % Wicken,

0 % Weizen und 30 % Raps gegen 93, 90 bzw. 89 % normal; die Keimprozente stiegen am 6. Versuchstage auf 69 % Wicken, 79 % Weizen und 60 % Raps gegen 95, 96 bzw. 93 % beim Kontrollversuch. Die weitere Entwicklung der Keimpflanzen war sehr verzögert (XXVII, 7).



$^1/_{50}$ Mol Cumarin pro 1 l Wasser bzw. eine kaltgesättigte Lösung verhinderte das Keimen bei Wicken und Weizen, bei Raps keimten insgesamt nur 9 %, und diese blieben vom 5. Versuchstage ab in ihrer Entwicklung stationär (XXVII, 8).

Das Cumarin erscheint demnach für die Keimung viel giftiger als die o-Cumarsäure.



$^1/_{250}$ Mol Äsculetin pro 1 l Wasser. Der Keimungsprozeß der Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps verlief nahezu normal (XXV, 6).

Wurde die Quellungsflüssigkeit, enthaltend $^1/_{200}$ Mol Äsculetin pro 1 l Wasser (nicht alles gelöst), nicht dekantiert sondern damit das Keimbett befeuchtet, so wurden zwar die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps wenig beeinflußt, dagegen wurde die Entwicklung der Stengel und insbesondere der Wurzeln geschädigt (XXVI, 6). Doch erwies sich Äsculetin unter sonst gleichen Versuchsbedingungen etwas weniger toxisch als Äsculin.

Daphnetin, isomer mit Äsculetin.

$^1/_{250}$ Mol Daphnetin pro 1 l Wasser. Die Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps keimten fast normal (XXV, 7).

Wurde mit einer $^1/_{200}$ Mol Daphnetin pro 1 l Wasser (nicht alles gelöst) enthaltenden Quellungsflüssigkeit das Keimbett befeuchtet, so war die Wirkung auf dieselben Versuchssamen und unter sonst gleichen Versuchsbedingungen ungefähr dieselbe wie bei Äsculetin (XXVI, 5).

Mandelsäure, Phenylglykolsäure $C_6H_5.CHOH.COOH$.

$^1/_{50}$ Mol Mandelsäure pro 1 l Wasser (0,304 %) erwies sich für die Versuchssamen als stark toxisch, insbesondere für Wicken

und Raps, weniger für Weizen. Von Wicken keimten insgesamt 12 %, von Raps 4 %, und diese verkümmerten alsbald. Von Weizen keimten am 3. Versuchstage 61 %, gegen 90 % beim Kontrollversuch, am 6. Tage 75 % gegen 96 % normal; das Wachstum der Stengel und Wurzeln wurde verzögert (XXVII, 10).

Chinasäure, Hexahydrotetraoxybenzoesäure

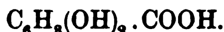


$C_6H.H_6.(OH)_4.COOH.$

$^1/_{50}$ Mol Chinasäure pro 1 l Wasser (0,384 %). Von den Versuchssamen Wicken, Weizen und Raps wurden am intensivsten die letzteren geschädigt; es keimten insgesamt nur 5 % Raps, und diese blieben vom 4. Versuchstage an in ihrer Entwicklung stationär und verkümmerten. Etwas weniger, aber noch immer bedeutend wurden die Wicken affiziert, am 3. Versuchstage keimten 26 % (normal 93 %), die Keimprozente stiegen dann auf 65 % gegen 95 % normal, doch wurden die Keimpflanzen in ihrer Entwicklung sehr geschädigt, es hatten nur 16 % einen deutlichen Stengel und eine deutliche Wurzel, und diese blieben in der Entwicklung zurück; bei den übrigen Keimpflanzen waren die Wurzeln oder die Stengel oder beide mehr oder weniger verkümmert. Relativ am wenigsten wurde Weizen benachteiligt, es keimten am 3. Versuchstage 80 %, am 5. Tage 87 % gegen 90 bzw. 96 % beim Kontrollversuch; das Wachstum der Stengel war verhältnismäßig wenig verzögert, etwas mehr wurde die Entwicklung der Wurzeln affiziert (XXVII, 11).

$^1/_{200}$ Mol Chinasäure pro 1 l Wasser (0,096 %) hat die Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps nur in geringem Maße benachteiligt; die Keimungsenergie und die Keimprozente wurden etwas herabgesetzt und das weitere Wachstum ein wenig verzögert (XXVI, 11).

Protocatechusäure, 1, 3, 4-Dioxybenzoesäure



$C_6H_3(OH)_2.COOH.$

$^1/_{50}$ Mol Protocatechusäure pro 1 l Wasser (0,344 %) setzte die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken und weißen Senfsamen sehr herab, Weizen wurde weniger beeinflußt; auch in der weiteren Entwicklung wurden Wicken und Senf am meisten geschädigt, die Wurzeln verkümmerten mehr oder weniger und die Stengel blieben in ihrer Entwicklung

zurück. Weizen wurde im Stengelwachstum wenig beeinflußt, dagegen in der Entwicklung der Wurzeln geschädigt (XIX, 5). Ähnlich wie auf Weizen war auch die Einwirkung auf Gerste. Bei Raps wurden die Keimungsenergie, die Keimprozente und das Wachstum sehr geschädigt (XXVII, 9).

In einer Konzentration von 0,81 % wirkte Protocatechusäure tödlich auf die Keimlinge der Wicken und weißen Senfsamen. Bei Weizen wurden die Keimungsenergie und die Keimprozente herabgesetzt, am 3. Versuchstage keimten 19 % gegen 90 % beim Kontrollversuch, die Keimprozente stiegen auf 67 % gegen 96 % normal; die Entwicklung der Stengel und noch mehr der Wurzeln wurde beeinträchtigt.

Im Vergleich zur Gallussäure ist die Protocatechusäure in äquimolekularer Lösung weniger giftig.

Gallussäure, 1, 2, 3, 5-Trioxybenzoesäure, $C_6H_2(OH)_3.COOH$.

$^1/_{200}$ Mol Gallussäure pro 1 l Wasser (0,094 %) setzte die Keimungsenergie der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps herab ohne die Keimprozente wesentlich zu vermindern, in der weiteren Entwicklung blieben die Keimpflanzen gegen den Kontrollversuch zurück (XXVI, 9).

$^1/_{50}$ Mol Gallussäure pro 1 l Wasser (0,376 %) wirkte besonders auf weißen Senf und auf Wicken stark toxisch ein, weniger auf Weizen. Am 3. und 4. Versuchstage keimten noch keine Senfsamen, am 5. Tage 6 % (gegen 96 % beim Kontrollversuch), die Keimpflänzchen blieben vom 6. Versuchstage an in ihrem Wachstum stationär und verkümmerten. Von Wicken keimten am 3. Versuchstage 2 %, am 4. 6 %, am 5. 10 % (gegen 92 % normal), in der Entwicklung wurden die Keimpflanzen sehr gehemmt. Weizen dagegen wurde relativ viel weniger benachteiligt (XXVIII, 4).

Für Wicken und weißen Senf war Gallussäure ein viel heftigeres Gift als eine äquimolekulare Lösung von Tannin, bei Weizen war die Wirkung beider ungefähr gleich (XXVIII, 2, 4).

Eine mit $^1/_{50}$ Mol Tannin pro 1 l Wasser nicht äquimolekulare, sondern gleichprozentige Lösung von Gallussäure — 0,644 % — war auch für Weizen nachteiliger als eine gleichprozentige Tanninlösung (XXVIII, 2, 5).

Tannin, Gallusgerbsäure $C_{14}H_{10}O_9$.

$^1/_{160}$ Mol Tannin pro 1 l Wasser (0,2 $^0/_0$) war für die Versuchssamen Erbsen, Weizen und Raps ohne Nachteil.

$^1/_{50}$ Mol Tannin pro 1 l Wasser (0,644 $^0/_0$) hat die Keimungsenergie bei Weizen und weißen Senf vermindert und die Keimprozente etwas herabgesetzt, die Wicken wurden nicht beeinflußt; in der Entwicklung der Wurzeln und Stengel blieben sämtliche Versuchssamen gegenüber dem Kontrollversuch zurück (XXVIII, 2). Wurde mit einer gleichkonzentrierten Tanninlösung das Keimbett befeuchtet, so war die Wirkung auf dieselben Versuchssamen ähnlich, nur in bezug auf die Wurzelbildung war die Schädigung eine viel größere, die Wurzeln sämtlicher Versuchssamen waren mehr oder weniger verkümmert (XXVIII, 3).

$^1/_{25}$ Mol Tannin pro 1 l Wasser (1,288 $^0/_0$) dekantiert, hat die Keimungsenergie und die Keimprozente der Wicken, Weizen und Rapssamen herabgesetzt und die Entwicklung der Keimpflanzen verzögert (XXIX, 2).

Catechin.

Eine 0,63 $^0/_0$ige Lösung von Catechin bewirkte eine Herabsetzung der Keimungsenergie bei Weizen, die Keimprozente selbst wurden nur wenig vermindert, Wicken und Rapssamen blieben unbeeinflußt; in der weiteren Entwicklung der Keimpflanzen trat eine Verzögerung ein, die sich am wenigsten bei Wicken, am meisten bei Raps bemerkbar machte (XXIX, 3). Ähnlich wirkte Catechin auch in einer etwas größeren Konzentration, nämlich 0,81 $^0/_0$, nur war die verzögernde Wirkung auf den Keimungsprozeß ein wenig größer.

Catechugerbsäure.

Catechugerbsäure wirkte in gleicher Konzentration wie Catechin (0,63 $^0/_0$) auf dieselben Versuchssamen (Wicken, Weizen und Raps) im großen und ganzen dem Catechin ähnlich (XXIX, 4). Dasselbe war der Fall bei Anwendung einer 0,81 $^0/_0$igen Catechugerbsäurelösung.

Kaffeegerbsäure.

0,25 $^0/_0$ige Kaffeegerbsäure oder $^1/_{130}$ Mol Kaffeegerbsäure pro 1 l Wasser unter Zugrundelegung der Formel $C_{15}H_{18}O_8$

oder $^1/_{200}$ Mol unter Annahme der Formel $C_{21}H_{28}O_{14}$, hat die Keimungsenergie und die Keimprozente der Versuchssamen Wicken, Gerste und Raps ein wenig vermindert; in der weiteren Entwicklung trat eine Verzögerung des Wachstums ein (XXVI, 4).

0,55 % Kaffeegerbsäure oder $^1/_{50}$ Mol Kaffeegerbsäure pro 1 l Wasser nach der Formel $C_{15}H_{18}O_8$ oder $^1/_{90}$ Mol nach der Formel $C_{21}H_{28}O_{14}$ hat die Keimungsenergie und die Keimprozente bei Wicken und weißen Senf herabgezetzt, Weizen wurde fast gar nicht beeinflußt; in der Entwicklung der Wurzeln und Stengel wurden die weißen Senfsamen am meisten geschädigt, weniger die Wicken, und relativ am wenigsten Weizen (XXVIII, 6).

Zusammenfassung der Resultate.

Glucoside.

Arbutin ist wenig giftig für den Keimling, selbst größere Konzentrationen ($^1/_{18}$ Mol Arbutin pro 1 l Wasser) vermochten die Keimung nicht wesentlich zu schädigen. Sein Aglykon, das Hydrochinon, dagegen ist viel giftiger, $^1/_{10}$ Mol Hydrochinon pro 1 l Wasser wirkte letal; die Zuckerkomponente, die d-Glucose ist ohne Nachteil für die Keimung selbst in einer Konzentration von $^1/_{12}$ Mol d-Glucose pro 1 l Wasser.

Die in kaltem Wasser schwerlöslichen Glucoside Phloridzin und Hesperidin und ihre Spaltprodukte Phloretin bzw. Hesperetin sind, soweit löslich (weniger als $^1/_{500}$ Mol pro 1 l Wasser), für die Keimung von geringem Nachteil.

Baptisin erwies sich, soweit in kaltem Wasser löslich (weniger als $^1/_{500}$ Mol pro 1 l Wasser), als ein ziemlich starkes Gift für den Keimling.

Salicin oder Glucosesalicylalkohol besitzt eine geringe Giftwirkung selbst in einer Konzentration von $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser; Helicin oder Glucosesalicylaldehyd dagegen wirkt in äquimolekularer Lösung viel giftiger auf die Keimung ein als Salicin.

Populin ist, soweit in kaltem Wasser löslich ($^1/_{1000}$ Mol pro 1 l Wasser), ohne Nachteil für die Keimung.

Coniferin ($^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser) ist wenig giftig; ein durch Emulsin vorher gespaltenes Coniferin dagegen wirkte

toxischer auf die Keimung ein als das ungespaltene unter sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Syringin ($^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser) ist nicht giftig.

Amygdalin selbst ist, soweit ungespalten, wenig giftig, mit zunehmender Spaltung nimmt aber die Giftwirkung zu. Die Spaltung des Amygdalins beim Keimen dürften Mikroorganismen hervorrufen[1]), indem Amygdalin bei möglichst steril[2]) ausgeführter Keimung weniger toxisch wirkte als bei nicht steriler Keimung unter sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Äsculin ist selbst in verdünnten Lösungen ($^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser) ziemlich giftig für die Keimung.

Sinigrin ist selbst in einer Konzentration von $^1/_{80}$ Mol pro 1 l Wasser wenig giftig. $^1/_{100}$ Mol Sinigrin pro 1 l Wasser erhöhte die Keimungsenergie und beschleunigte das Wachstum von schwarzem Senf.

Convallarin ist, soweit in kaltem Wasser löslich (weniger als $^1/_{646}$ Mol pro 1 l Wasser) von geringer Giftwirkung.

Helleborein (0,2 und 0,4 %) ist ziemlich giftig, Bryonin (in gleichen Konzentrationen) ist von geringem Nachteil für die Keimung.

Strophanthin Merck ($^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser) ist giftig für den Keimling.

Digitalin Merck 0,1 % (oder $^1/_{700}$ Mol nach der Formel $C_{35}H_{56}O_{14}$ pro 1 l Wasser) ist wenig giftig, Digitalein in gleichprozentiger Lösung fast ohne Nachteil.

Saponin Merck und Sapogenin ($^1/_{350}$ Mol pro 1 l Wasser) sind etwas giftig. Sapotoxin in einer Konzentration von 0,04 % ist wenig nachteilig.

Anhang.

Bitterstoffe.

Aloin ist in einer Konzentration von $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser giftig für den Keimling; noch giftiger ist Pikrotoxin, das selbst in einer schwächeren Konzentration toxischer wirkte als Aloin.

---

[1]) Insofern die Samen selbst nicht schon ein auf Amygdalin wirksames Enzym enthalten.

[2]) Soweit dies möglich ist, ohne die Versuchssamen zu schädigen.

Spaltprodukte der Glucoside und verwandte Stoffe.

Phenole.

Carbolsäure ist sehr giftig, $^1/_{20}$ Mol pro 1 l Wasser wirkt letal auf die Keimlinge, $^1/_{50}$ Mol ist noch sehr schädlich.

Brenzcatechin, Resorcin, Hydrochinon und Pyrogallol sind sehr giftig, $^1/_{10}$ Mol pro 1 l Wasser tötet die Keimlinge, erst von $^1/_{75}$ Mol an sind sie weniger schädlich; Phloroglucin ist etwas minder giftig.

Eine Vorquellung der Samen mit einer 0,2%igen Calciumsaccharatlösung wirkte teilweise entgiftend auf die Carbolsäure und das Brenzcatechin ein.

Ebenso hat eine Vorquellung der Samen mit einer 0,1 bis 0,2%igen Diastaselösung die Giftwirkung bei Hydrochinon, Pyrogallol, Phloroglucin und Brenzcatechin vermindert, wahrscheinlich infolge Bildung von minder giftigen Glucoseverbindungen der Phenole.

Chinon ist sehr giftig, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser wirkte zum Teil letal auf die Keimlinge der Versuchssamen ein.

Aromatische Alkohole, Aldehyde und Säuren. Gerbstoffe.

Saligenin, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, ist von geringer Giftwirkung auf die Keimung.

Salicylaldehyd, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, wirkt stark toxisch.

Benzaldehyd, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, ist weniger giftig als Salicylaldehyd in äquimolekularer Lösung; erst $^1/_{20}$ Mol pro 1 l Wasser äußert eine intensive Giftwirkung auf die Keimlinge.

Vanillin ist in einer Konzentration von $^1/_{100}$ und noch mehr von $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser ziemlich giftig.

Piperonal ist wesentlich giftiger als Vanillin in äquimolekularer Lösung.

Benzoesäure ist sehr giftig, bereits $^1/_{200}$ Mol pro 1 l Wasser schädigt die Keimung, $^1/_{50}$ Mol wirkt letal auf die Keimlinge.

Salicylsäure ist sehr giftig, wirkt in äquimolekularer Lösung toxischer als die Benzoesäure.

Zimtsäure ist, soweit in kaltem Wasser löslich, rund $^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser für den Keimling ein Gift.

Orthocumarsäure ist, soweit in kaltem Wasser löslich,

weniger als $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, giftig; Cumarin ist unter denselben Bedingungen noch giftiger.

Äsculetin und das isomere Daphnetin sind in kaltgesättigter Lösung, etwa $^1/_{250}$ Mol pro 1 l Wasser, wenig giftig.

Mandelsäure und Chinasäure, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, wirken stark toxisch.

Protocatechusäure, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, ist sehr giftig.

Gallussäure, $^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser, ist noch etwas giftiger als Protocatechusäure in äquimolekularer Menge.

Tannin ist viel weniger giftig als Gallussäure.

Catechin und Catechugerbsäure sind selbst in einer Konzentration von 0,63 % von geringer Giftwirkung.

Kaffeegerbsäure ist giftiger als Tannin in äquimolekularer Lösung ($^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser).

Tabellen.

(W bedeutet Wurzel, S Stengel, Sp Spuren, v verkümmert.)
Die Messungsresultate sind in Millimetern ausgedrückt.

XV. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 21. III. bis 5. IV.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste
Am 3. Versuchstage:				
1. Wasser	90	W 6–14	89	W 6–12
2. Solanin 0,04 % dekantiert .	90	6–14	75	3–11
3. „ 0,04 % befeuchtet .	88	5–9	70	3–9
4. Solanidin 0,04 % dekantiert	85	6–11	78	3–11
5. „ 0,04 % befeuchtet	85	5–10	74	2–10
6. Digitalin 0,1 %	90	6–11	79	3–9
7. Digitalein 0,1 %	89	6–11	80	3–11
8. Saponin $^1/_{350}$ Mol	90	6–10	66	3–10
9. Sapogenin $^1/_{350}$ Mol dekantiert	87	6–11	64	2–9
10. „ $^1/_{350}$ „ befeuchtet	85	5–9	63	2–9
11. Sapotoxin 0,04 %	81	5–10	79	3–10
12. Hesperidin 0,04 % dekantiert	83	6–12	80	3–10
13. „ 0,04 % befeuchtet	81	5–9	72	2–9
14. Hesperetin 0,04 % dekantiert	85	6–13	89	4–11
15. „ 0,04 % befeuchtet	78	5–11	84	3–10
Am 4. Versuchstage:				
1. Wasser	92	W 14–24, S 2–5	93	W 9–19
2. Solanin 0,04 %	90	13–23, 2–5	90	3–18
3. „ 0,04 %	88	8–15, 2–4	80	3–15
4. Solanidin 0,04 %	85	10–20, 2–5	86	3–19

XV. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Gerste
5. Solanidin 0,04 %	85	W 10–17, S 2–5	84	W 3–15
6. Digitalin 0,1 %	90	13–20, 2–5	89	4–19
7. Digitalein 0,1 %	88	13–20, 2–5	90	3–20
8. Saponin $^1/_{350}$ Mol	90	12–20, 2–5	73	2–17
9. Sapogenin $^1/_{350}$ Mol	89	11–19, 2–5	70	2–15
10. „ $^1/_{350}$ „	87	8–15, 1–4	67	2–13
11. Sapotoxin 0,04 %	85	10–20, 2–5	85	2–18
12. Hesperidin 0,04 %	83	13–21, 2–5	87	2–18
13. „ 0,04 %	82	10–18, 2–4	83	2–16
14. Hesperetin 0,04 %	87	12–22, 2–5	91	2–20
15. „ 0,04 %	78	9–19, 1–4	88	2–17
Am 6. Versuchstage:				
1. Wasser	92	W 25–40, S 7–16	93	S 10–29
2. Solanin 0,04 %	90	23–39, 6–14	91	5–26
3. „ 0,04 %	88	19–36, 6–13	85	4–20
4. Solanidin 0,04 %	87	22–40, 6–13	86	6–26
5. „ 0,04 %	87	19–38, 6–13	85	5–25
6. Digitalin 0,1 %	90	23–39, 5–12	89	6–23
7. Digitalein 0,1 %	88	20–40, 6–13	92	7–25
8. Saponin $^1/_{350}$ Mol	91	17–38, 6–13	75	5–25
9. Sapogenin $^1/_{350}$ Mol	90	18–40, 5–14	80	5–24
10. „ $^1/_{350}$ „	88	15–33, 4–14	79	4–21
11. Sapotoxin 0,04 %	87	16–40, 5–15	87	5–26
12. Hesperidin 0,04 %	85	19–40, 5–15	87	5–25
13. „ 0,04 %	85	17–38, 5–14	87	4–25
14. Hesperetin 0,04 %	89	16–40, 6–16	92	9–28
15. „ 0,04 %	81	16–30, 5–15	90	8–26
Am 9. Versuchstage:				
1. Wasser	93	S 25–46	93	S 50–96
2. Solanin 0,04 %	92	22–44	91	42–90
3. „ 0,04 %	88	20–40	85	30–84
4. Solanidin 0,04 %	87	20–45	86	44–90
5. „ 0,04 %	87	18–44	85	42–90
6. Digitalin 0,1 %	90	21–42	89	45–86
7. Digitalein 0,1 %	88	20–44	92	45–88
8. Saponin $^1/_{350}$ Mol	91	22–45	76	41–90
9. Sapogenin	90	23–46	81	38–95
10. „	88	16–38	79	23–80
11. Sapotoxin 0,04 %	87	22–43	87	40–92
12. Hesperidin 0,04 %	85	24–44	88	41–95
13. „ 0,04 %	85	23–42	87	40–95
14. Hesperetin 0,04 %	89	24–46	92	45–96
15. „ 0,04 %	86	23–43	90	43–95

Die Wurzeln waren bei Solanin, Solanidin, Digitalein, Sapotoxin, Hesperidin und Hesperetin (alle dekantiert) nahezu normal entwickelt; dagegen etwas schwächer bei Digitalin, Saponin, Sapogenin (dekantiert) und bei allen befeuchtet angewandten: Solanin, Solanidin, Sapogenin, Hesperidin und Hesperetin.

XVI. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 29. XI. bis 13. XII.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	91	W 3–7	90	W 2–5	92	—
2. Arbutin $^1/_{500}$ Mol . .	87	2–7	83	2–5	88	—
3. " $^1/_{100}$ " . .	86	2–6	82	2–5	80	—
4. " $^1/_{50}$ " . .	83	2–5	79	2–4	75	—
5. Phloridzin $^1/_{500}$ " . .	91	2–6	77	2–4	88	—
6. Phloretin $^1/_{500}$ " . .	91	2–6	90	2–5	89	—
7. Hesperidin $^1/_{500}$ " . .	86	2–5	89	2–4	87	—
8. Hesperetin $^1/_{500}$ " . .	90	2–6	90	2–5	87	—
9. Baptisin $^1/_{500}$ " . .	86	2–5	78	2–4	75	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 8–15	93	W 8–15, S 3–5	93	—
2. Arbutin $^1/_{500}$ Mol . .	90	8–15	87	7–13, 2–5	89	—
3. " $^1/_{100}$ " . .	89	7–14	87	6–12, 2–5	86	—
4. " $^1/_{50}$ " . .	85	6–12	79	5–11, 2–4	76	—
5. Phloridzin $^1/_{500}$ " . .	91	6–11	81	6–12, 3–5	89	—
6. Phloretin $^1/_{500}$ " . .	92	8–15	92	8–15, 3–5	90	—
7. Hesperidin $^1/_{500}$ " . .	87	8–14	90	5–12, 2–4	88	—
8. Hesperetin $^1/_{500}$ " . .	91	8–15	92	6–13, 3–5	88	—
9. Baptisin $^1/_{500}$ " . .	86	6–11	—	—	81	—
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 21–35, S 8–12	94	S 25–35	93	S 9–17
2. Arbutin $^1/_{500}$ Mol . .	91	20–34, 6–11	91	20–35	92	8–16
3. " $^1/_{100}$ " . .	90	19–32, 5–9	91	19–34	89	7–15
4. " $^1/_{50}$ " . .	89	18–31, 4–9	90	18–33	84	6–11
5. Phloridzin $^1/_{500}$ " . .	92	20–32, 7–11	88	21–34	90	9–17
6. Phloretin $^1/_{500}$ " . .	93	20–33, 7–12	94	22–35	93	9–18
7. Hesperidin $^1/_{500}$ " . .	89	19–30, 6–10	91	20–34	90	8–14
8. Hesperetin $^1/_{500}$ " . .	92	19–32, 6–11	94	22–35	91	9–16
9. Baptisin $^1/_{500}$ " . .	88	17–29, 4–8	90	18–32	85	8–13
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 9–17	—	S 46–63	—	S 13–29
2. Arbutin $^1/_{500}$ Mol . .	—	8–17	—	43–60	—	12–26
3. " $^1/_{100}$ " . .	—	8–15	—	36–55	—	11–25
4. " $^1/_{50}$ " . .	—	7–14	—	35–55	—	10–24
5. Phloridzin $^1/_{500}$ " . .	—	9–16	—	41–60	—	12–28
6. Phloretin $^1/_{500}$ " . .	—	9–17	—	45–61	—	12–29
7. Hesperidin $^1/_{500}$ " . .	—	8–16	—	44–61	—	10–27
8. Hesperetin $^1/_{500}$ " . .	—	8–17	—	46–62	—	11–30
9. Baptisin $^1/_{500}$ " . .	—	7–13	—	37–56	—	10–27
Am 12. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 18–30	—	S 75–98	—	S 22–38
2. Arbutin $^1/_{500}$ Mol . .	—	17–30	—	73–97	—	20–37
3. " $^1/_{100}$ " . .	—	17–27	—	70–90	—	20–36
4. " $^1/_{50}$ " . .	—	14–24	—	68–90	—	19–35
5. Phloridzin $^1/_{500}$ " . .	—	17–29	—	69–96	—	20–37

XVI. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
6. Phloretin $^1/_{500}$ Mol . .	—	S 16–30	—	S 70–96	—	S 20–37
7. Hesperidin $^1/_{500}$ „ . .	—	15–28	—	69–96	—	19–35
8. Hesperetin $^1/_{500}$ „ . .	—	17–30	—	71–97	—	20–38
9. Baptisin $^1/_{500}$ „ . .	—	14–25	—	67–92	—	19–33

Die Entwicklung der Wurzeln war bei Arbutin $^1/_{500}$ Mol, Phloretin und Hesperetin ungefähr wie beim Kontrollversuch, etwas schwächer mit zunehmender Benachteiligung bei Phloridzin, Arbutin $^1/_{100}$ Mol, Arbutin $^1/_{50}$ Mol, Hesperidin, relativ am meisten geschädigt war die Wurzelbildung bei Baptisin.

XVII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 29. XII. bis 14. I.
Zimmertemperatnr: 7 bis 15° R.

$^1/_{20}$ Mol pro 1 l Wasser (Samen 24 Std. mit reinem Wasser vorgequellt)	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 4–8	77	W Sp–5, S 0–2	75	—
2. Carbolsäure	0	—	0	—	0	—
3. Brenzcatechin	0	—	0	—	0	—
4. Resorcin	0	—	0	—	0	—
5. Hydrochinon	0	—	0	—	0	—
6. Pyrogallol	0	—	0	—	0	—
7. Phloroglucin	0	—	64	Sp–3, 0–1	0	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 10–16, S 0–3	81	S 2–5	86	W 4–15
2. Carbolsäure	0	—	0	—	0	—
3. Brenzcatechin	0	—	0	—	0	—
4. Resorcin	0	—	0	—	0	—
5. Hydrochinon	41	Sp, 0	0	—	8	W Sp
6. Pyrogallol	0	—	0	—	0	—
7. Phloroglucin	20	Sp, 0	75	W 5–12, S 0–3	0	—
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 12–30, S 2–6	90	S 4–20	92	S 7–15
2. Carbolsäure	0	—	0	—	0	—
3. Brenzcatechin	3	Sp, 0	16	W Sp, S 0	0	—
4. Resorcin	0	—	0	—	0	—
5. Hydrochinon	82	Sp–7, 0–Sp	0	—	25	W Sp–8
6. Pyrogallol	4	Sp, 0	26	Sp, 0	16	Sp
7. Phloroglucin	87	Sp–8, 0–Sp	84	S 2–8	12	Sp
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 10–20	90	S 30–60	92	S 10–38
2. Carbolsäure	0	—	0	—	0	—
3. Brenzcatechin	7	W 11–24, S 2–7	26	S 3–20	8	v

XVII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{20}$ Mol pro 1 l Wasser (Samen 24 Std. mit reinem Wasser vorgequellt)	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
4. Resorcin	0	—	0	—	17	S v
5. Hydrochinon	86	W 3–20, S 0–10	12	W 2–14, S Sp–5	45	0–7
6. Pyrogallol	4	—	41	S Sp–9	53	0–12
7. Phloroglucin	91	W 4–20, S 0–10	84	S 12–45	28	0–6

XVIII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 16. bis 31. I.

Zimmertemperatur: 7 bis 16° R.

$^1/_{40}$ Mol pro 1 l Wasser (Samen 24 Std. mit reinem Wasser vorgequellt)	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	91	W 4–9	80	W Sp–5, S 0–2	82	W Sp–6
2. Carbolsäure . . .	4	Sp	24	Sp	19	Sp
3. Brenzcatechin . . .	0	—	50	Sp	6	Sp
4. Resorcin	0	—	25	Sp	31	Sp
5. Hydrochinon . . .	10	Sp–6	71	Sp	28	Sp
6. Pyrogallol	7	Sp	57	Sp	6	Sp
7. Phloroglucin . . .	85	Sp–4	80	Sp–5, 0–2	7	Sp
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 11–19, S 2–4	83	W 5–17, S 2–5	89	W 5–15, S 0–5
2. Carbolsäure	27	Sp–5, 0	27	2–6, 0–3	35	—
3. Brenzcatechin . . .	2	—	51	2–10, 0–3	8	—
4. Resorcin	21	Sp–4, 0	36	Sp–6, 0–2	67	2–7, 0–3
5. Hydrochinon . . .	90	2–15, 0–2	73	2–8, 0–3	81	2–10, 0–3
6. Pyrogallol	20	Sp–4, 0	70	Sp–7, 0–2	85	1–4, 0–Sp
7. Phloroglucin . . .	87	2–10, 0–2	86	4–16, 2–5	24	1–4, 0–Sp
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 13–26, S 4–7	87	S 5–10	94	S 4–10
2. Carbolsäure	35	1–8, 0	39	W Sp–9, S 0–5	41	0–4
3. Brenzchatechin . .	4	1–5, 0	53	S 0–5	27	W 1–6, S 0
4. Resorcin	35	1–7, 0	36	0–4	67	S 0–5
5. Hydrochinon . . .	90	2–19, Sp–4	75	2–5	86	0–5
6. Pyrogallol	20	1–5, 0	77	2–6	87	0–5
7. Phloroglucin . . .	87	5–20, 1–4	88	4–9	61	0–3
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 17–36, S 8–14	88	S 20–40	94	S 10–21
2. Carbolsäure	80	2–14 0–5	—	0–15	58	0–15
3. Brenzcatechin . . .	18	1–11 0–3	53	0–26	44	0–7
4. Resorcin	90	1–15 0–4	40	3–15	80	0–14
5. Hydrochinon . . .	93	3–28 0–10	76	5–21	86	0–15
6. Pyrogallol	38	1–16 0–6	77	4–18	88	Sp–15
7. Phloroglucin . . .	89	6–30 2–11	88	10–38	79	0–10
Am 15. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 30–68	88	S 72–135	94	S 35–60
2. Carbolsäure	88	5–40	80	32–108	58	12–44
3. Brenzcatechin . . .	35	4–22	53	41–120	44	12–43

XVIII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/40 Mol pro 1 l Wasser (Samen 24 Std. mit reinem Wasser vorgequellt)	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
4. Resorcin	90	S 9–42	46	S 40–121	80	S 15–42
5. Hydrochinon . . .	93	20–65	76	57–115	86	16–57
6. Pyrogallol	40	12–46	77	53–106	88	16–58
7. Phloroglucin . . .	89	25–62	88	62–130	79	15–42

XIX. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 3. bis 14. III.

Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

1/40 Mol pro 1 l Wasser[1])	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Weißer Senf
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 10–19, S Sp–3	94	W 7–15	74	W + S 7–15
2. Calciumsaccharat .	93	10–19, Sp–3	92	7–16	71	6–15
3. Carbolsäure	44	Sp–5, 0	0	—	11	—
4. „ + Calciumsaccharat	80	2–8, 0	11	Sp	17	—
5. Brenzcatechin . . .	3	Sp–5, 0	14	Sp–6	20	—
6. „ + Calciumsaccharat	15	3–8, 0	24	Sp–10	26	—
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 15–32, S 3–7	94	W 12–19, S 2–18	83	W 6–21, S 0–15
2. Calciumsaccharat .	93	15–35, 3–7	95	13–19, 3–19	80	6–20, 0–15
3. Carbolsäure	81	1–15, 0–4	13	Sp–7, 0–5	20	1–4, 0
4. „ + Calciumsaccharat	86	3–19, 0–6	31	3–12, 0–12	24	4–13, 0–11
5. Brenzcatechin . . .	4	1–10, 0–2	30	3–14, 0–6	39	3–12, 0–6
6. „ + Calciumsaccharat	28	3–18, 0–4	30	5–18, 0–8	49	4–17, 0–10
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 9–15	94	S 23–50	85	S 10–30
2. Calciumsaccharat .	94	8–16	95	25–53	81	10–29
3. Carbolsäure	87	Sp–10	24	0–15	20	0–5
4. „ + Calciumsaccharat	92	7–11	38	8–24	31	Sp–25
5. Brenzcatechin . . .	30	W 3–13, S 0–2	40	0–20	43	0–13
6. „ + Calciumsaccharat	42	5–21, 0–10	44	0–33	49	Sp–20
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 14–35	94	S 43–80	90	S 20–50
2. Calciumsaccharat .	94	15–34	95	45–83	83	20–48
3. Carbolsäure	87	(27 % v) 6–15	24	14–46	20	± v
4. „ + Calciumsaccharat	92	(4 % v) 10–22	38	19–56	31	11–40
5. Brenzcatechin . . .	46	W 5–20, S 0–6	40	8–50	43	10–34
6. „ + Calciumsaccharat	46	5–40, 0–20	44	12–60	49	10–35

[1]) **Die Samen wurden 24 Stunden mit reinem Wasser bzw. mit einer 0,2 %igen Calciumsaccharatlösung vorgequellt.**

XX. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 26. V. bis 9. VI.
Zimmertemperatur: 14 bis 17° R.

1/50 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 4–10	85	W 2–9, S Sp–3	88	—
2. Carbolsäure	0	—	16	Sp, 0	13	—
3. Brenzcatechin	7	Sp–2	57	Sp, 0	2	—
4. Resorcin	3	Sp–3	34	Sp, 0	40	—
5. Hydrochinon	90	1–6	54	Sp–2, 0	50	—
6. Pyrogallol	23	Sp	55	Sp, 0	34	—
7. Phloroglucin	89	1–5	86	1–8, Sp–2	11	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 12–24, S 2–6	95	W 10–24, S 7–11	90	—
2. Carbolsäure	51	Sp–5, 0	34	2–8, 0–2	30	—
3. Brenzcatechin	20	Sp–3, 0	51	2–15, Sp–7	23	—
4. Resorcin	73	Sp–7, 0–Sp	51	2–13, Sp–5	77	—
5. Hydrochinon	90	8–20, 2–4	70	5–19, 2–8	88	—
6. Pyrogallol	70	Sp–8, 0–2	67	2–14, Sp–7	75	—
7. Phloroglucin	88	6–14, Sp–4	82	6–23, 7–10	73	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 18–35, S 4–8	95	W 19–38, S 13–26	92	S 7–12
2. Carbolsäure	65	Sp–7, 0–1	48	2–15, 1–6	73	0–3
3. Brenzcatechin	36	Sp–5, 0–1	67	6–22, 5–10	77	0–3
4. Resorcin	81	Sp–9, 0–4	59	5–20, 7–13	87	0–7
5. Hydrochinon	91	15–30, 3–6	89	6–22, 6–13	89	2–10
6. Pyrogallol	71	2–10, 0–1	85	4–17, 3–12	79	0–7
7. Phloroglucin	90	15–27, 3–6	84	11–30, 12–23	73	0–7
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 13–26	95	S 42–66	92	S 16–35
2. Carbolsäure	85	0–18	74	3–38	73	4–20
3. Brenzcatechin	83	0–11	86	3–50	83	0–10
4. Resorcin	83	2–11	67	3–55	87	0–23
5. Hydrochinon	91	10–21	92	21–56	90	9–22
6. Pyrogallol	72	5–12	92	20–52	79	8–20
7. Phloroglucin	90	11–19	84	35–63	75	8–21
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 17–38	—	S 67–93	—	S 18–41
2. Carbolsäure	—	0–21	—	12–58	—	11–37
3. Brenzcatechin	—	0–14	—	11–60	—	8–27
4. Resorcin	—	9–18	—	14–60	—	12–38
5. Hydrochinon	—	13–27	—	36–80	—	14–40
6. Pyrogallol	—	10–25	—	29–70	—	10–35
7. Phloroglucin	—	15–32	—	50–90	—	9–32
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 37–62	—	S 102–140	—	S 33–62
2. Carbolsäure	—	0–38	—	33–100	—	20–44
3. Brenzcatechin	—	0–27	—	40–110	—	13–40
4. Resorcin	—	14–42	—	70–120	—	20–54
5. Hydrochinon	—	33–58	—	84–120	—	20–60
6. Pyrogallol	—	20–44	—	72–110	—	17–157
7. Phloroglucin	—	24–55	—	90–134	—	12–54

XXI. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 22. IX. bis 9. X.
Zimmertemperatur: 13 bis 15° R.

1/75 Mol pro 1 l Wasser (Samen 19 Std. mit reinem Wasser vorgequellt)	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 6–9	94	W 5–11	91	—
2. Brenzcatechin	19	Sp–4	73	Sp–6	10	—
3. Resorcin	17	Sp–2	71	Sp–3	78	—
4. Hydrochinon	92	4–7	64	Sp–2	89	—
5. Pyrogallol	69	Sp–2	73	Sp–3	70	—
6. Phloroglucin	91	1–5	86	2–6	—	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 13–18, S 2–4	94	W 11–22, S 4–9	93	—
2. Brenzcatechin	37	Sp–12, 0–2	83	5–15, 2–5	30	—
3. Resorcin	79	Sp–6, 0–Sp	72	4–11, 1–4	85	—
4. Hydrochinon	93	8–17, Sp–3	73	6–14, 2–4	90	—
5. Pyrogallol	78	Sp–6, 0–2	81	3–8, Sp–3	80	—
6. Phloroglucin	91	6–12, Sp–3	87	7–16, 3–6	77	—
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 8–16	94	S 20–53	93	S 11–20
2. Brenzcatechin	73	Sp–8	90	15–30	79	3–10
3. Resorcin	82	2–8	89	14–36	89	5–16
4. Hydrochinon	93	3–9	90	15–27	93	6–12
5. Pyrogallol	84	Sp–9	88	10–21	91	4–11
6. Phloroglucin	92	4–10	90	15–30	91	5–14
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 20–30	94	S 80–100	93	S 22–34
2. Brenzcatechin	73	3–17	91	52–76	82	8–21
3. Resorcin	82	9–20	90	50–84	89	10–30
4. Hydrochinon	93	10–22	92	48–74	93	11–28
5. Pyrogallol	87	8–20	88	40–72	91	10–26
6. Phloroglucin	92	10–23	91	48–80	91	11–27
Am 13. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 25–48	—	S 100–135	—	S 30–50
2. Brenzcatechin	—	10–28	—	80–120	—	30–47
3. Resorcin	—	15–32	—	76–118	—	14–45
4. Hydrochinon	—	17–35	—	75–110	—	18–37
5. Pyrogallol	—	15–36	—	70–120	—	19–46
6. Phloroglucin	—	17–41	—	76–125	—	20–45
Am 16. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 45–80	—	S 110–150	—	S 40–62
2. Brenzcatechin	—	30–50	—	94–145	—	20–50
3. Resorcin	—	35–57	—	92–136	—	25–54
4. Hydrochinon	—	38–60	—	93–134	—	30–47
5. Pyrogallol	—	35–62	—	90–145	—	30–53
6. Phloroglucin	—	40–65	—	87–140	—	29–51

Die Wurzeln der Keimpflanzen bei Brenzcatechin, Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol und Phloroglucin blieben in der Entwicklung gegenüber dem Kontrollversuch zurück.

XXII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 15. bis 27. III.

Zimmertemperatur: 8. bis 16° R.

1/100 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 6–10	85	W 4–10	91	W 1–8
2. Salicin	91	6–11	81	3–9	89	1–7
3. Populin[1]	80	5–9	81	3–9	82	1–6
4. Helicin	86	5–9	30	2–6	12	1–2
5. Vanillin	75	1–4	40	2–4	64	1–2
6. Piperonal	73	1–3	18	2–4	31	1–2
7. Coniferin	86	5–8	78	4–9	85	1–7
8. Syringin	90	4–10	82	4–10	86	1–8
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 10–18, S Sp–3	92	W 7–16	92	W 5–11, S 0–6
2. Salicin	92	9–18, Sp–3	88	6–13	89	5–10, 0–5
3. Populin[1]	82	9–17, Sp–3	82	6–14	86	4–8, 0–4
4. Helicin	86	7–16, Sp–2	58	4–10	41	1–6, 0–3
5. Vanillin	83	4–10, 0–Sp	70	2–10	78	2–6, 0–3
6. Piperonal	83	3–6, 0	52	2–9	63	1–5, 0–3
7. Coniferin	88	7–14, Sp–2	90	2–13	90	1–11, 0–6
8. Syringin	90	10–18, Sp–3	91	6–17	86	5–10, 0–6
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 15–26, S 2–6	93	W 10–20	93	W 8–15, S 5–10
2. Salicin	92	12–24, 2–6	91	9–18	91	7–15, 5–9
3. Populin[1]	87	14–24, 2–7	83	9–18	85	7–14, 4–8
4. Helicin	87	10–20, 2–4	68	6–14	80	1–9, 0–3
5. Vanillin	89	9–17, 2–4	75	6–15	87	2–12, 0–4
6. Piperonal	84	6–13, Sp–3	62	6–14	73	2–9, 0–3
7. Coniferin	88	10–23, 2–5	91	7–17	92	6–15, 4–9
8. Syringin	90	13–24, 2–5	91	9–19	90	7–16, 4–11
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 24–40, S 5–15	94	S 9–40	94	S 12–22
2. Salicin	92	25–40, 5–16	92	9–35	91	11–24
3. Populin[1]	91	20–38, 5–14	83	8–33	91	6–20
4. Helicin	90	19–37, 4–13	80	6–26	90	3–17
5. Vanillin	89	19–36, 4–13	83	6–27	90	4–18
6. Piperonal	85	18–35, 4–12	69	3–21	79	2–16
7. Coniferin	90	20–38, 5–14	92	4–36	92	10–24
8. Syringin	90	19–40, 5–15	91	15–39	90	10–25
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 9–22	94	S 20–62	94	S 17–33
2. Salicin	92	8–25	92	21–63	91	17–32
3. Populin[1]	91	7–22	83	19–58	91	12–30
4. Helicin	90	7–18	83	18–50	90	10–29
5. Vanillin	89	6–18	84	15–48	90	9–27
6. Piperonal	85	5–15	69	9–30	79	6–26
7. Coniferin	88	9–23	92	16–56	92	15–34
8. Syringin	91	7–21	91	23–63	91	15–34

[1] In Form einer kaltgesättigten Lösung, rund 1/1000 Mol pro 1 l Wasser.

XXII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

$^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 20–37	—	S 45–86	—	S 25–50
2. Salicin	—	19–40	—	46–88	—	25–48
3. Populin[1]	—	19–36	—	43–90	—	22–47
4. Helicin	—	16–35	—	40–82	—	20–43
5. Vanillin	—	15–35	—	35–80	—	19–42
6. Piperonal	—	13–29	—	28–67	—	16–40
7. Coniferin	—	20–37	—	44–85	—	24–50
8. Syringin	—	18–36	—	46–87	—	24–49

Das Wurzelsystem war bei Syringin und Populin nahezu normal entwickelt, etwas geschwächt war es bei Salicin, Helicin und Vanillin, am meisten geschädigt wurde die Wurzelbildung bei Piperonal.

XXIII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 27. III. bis 9. IV.

Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

$^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser[2]	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	89	W 5–11	86	W 3–10	90	W 1–8
2. Salicin	90	4–10	80	2–8	80	1–5
3. Populin[1]	79	4–10	80	2–9	80	1–5
4. Helicin	85	2–8	26	2–8	0	—
5. Vanillin	12	Sp	21	Sp	11	Sp
6. Piperonal	0	—	0	—	0	—
7. Coniferin	86	2–8	73	2–9	85	1–5
8. Syringin	84	2–10	82	2–10	84	1–6
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 11–18, S Sp–3	90	W 8–16	91	W 5–10, S 0–6
2. Salicin	90	7–15, Sp–2	85	6–13	85	2–9, 0–5
3. Populin[1]	85	9–17, Sp–3	80	7–12	83	2–9, 0–5
4. Helicin	85	6–13, 0–Sp	31	Sp–10	0	—
5. Vanillin	75	Sp–4, 0	34	Sp–8	45	1–5, 0
6. Piperonal	0	—	0	—	0	—
7. Coniferin	87	6–14, Sp–2	80	8–13	90	1–9, 0–5
8. Syringin	87	7–15, Sp–3	87	8–14	86	2–10, 0–6

[1]) In Form einer kaltgesättigten Lösung, rund $^1/_{1000}$ Mol pro 1 l Wasser.

[2]) Die Quellungsflüssigkeit wurde nicht dekantiert, sondern mit ihr das Keimbett befeuchtet.

XXIII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/100 Mol pro 1 l Wasser[1])	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Gerste	Keim-prozente	Raps
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 16–29, S 4–9	91	S 7–16	93	S 4–12
2. Salicin	91	13–21, 3–7	87	5–13	89	3–9
3. Populin[2])	86	14–26, 3–7	82	5–15	84	3–10
4. Helicin	86	6–13, Sp–5	40	W 5–12, S 0–2	4	W 1–3, S 0
5. Vanillin	85	2–8, 0–2	40	5–13, 0–2	80	1–9, 0–6
6. Piperonal	0	—	0	—	0	—
7. Coniferin	87	14–22, 3–6	84	S 5–15	91	S 4–10
8. Syringin	87	14–26, 3–7	86	6–16	90	4–11
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 12–25	92	S 30–60	94	S 12–30
2. Salicin	91	9–20	89	22–45	90	5–25
3. Populin[2])	90	10–22	82	25–51	90	8–28
4. Helicin	90	3–14	47	7–23	26	W 1–5, S 0–2
5. Vanillin	88	3–9	40	8–30	80	5–15, 3–20
6. Piperonal	0	—	0	—	0	—
7. Coniferin	89	9–17	86	20–56	91	S 8–28
8. Syringin	88	6–25	88	20–60	90	10–30
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 28–46	—	S 63–110	—	S 26–50
2. Salicin	—	20–44	—	40–100	—	17–44
3. Populin[2])	—	28–44	—	60–105	—	20–47
4. Helicin	—	12–40	—	22–64	—	—
5. Vanillin	—	11–23	—	36–70	—	15–36
6. Piperonal	—	—	—	—	—	—
7. Coniferin	—	15–43	—	46–106	—	20–48
8. Syringin	—	25–43	—	50–108	—	25–50
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 42–80	—	S 74–133	—	S 30–60
2. Salicin	—	30–75	—	66–120	—	23–55
3. Populin[2])	—	35–72	—	73–130	—	28–58
4. Helicin	—	17–70	—	46–100	—	4–15
5. Vanillin	—	12–47	—	63–108	—	20–45
6. Piperonal	—	—	—	—	—	—
7. Coniferin	—	25–70	—	60–128	—	27–58
8. Syringin	—	35–80	—	70–132	—	30–60

Das Wachstum der Wurzeln stand bei Syringin und Populin hinter dem Kontrollversuch nur wenig zurück, etwas mehr benachteiligt wurde es bei Coniferin und Salicin; die relativ größte Schädigung zeigten die Wurzeln bei Vanillin und Helicin; bei Piperonal kam es überhaupt nicht zu einer Wurzelbildung bzw. Keimung.

[1]) Die Quellungsflüssigkeit wurde nicht dekantiert, sondern mit ihr das Keimbett befeuchtet.

[2]) In Form einer kaltgesättigten Lösung, rund 1/1000 Mol pro 1 l Wasser.

XXIV. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 7. bis 21. VI.
Zimmertemperatur: 14 bis 17° R.

$^1/_{50}$ Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W10–17, S Sp–4	70	W 10–20	89	—
2. Chinon	49	Sp–11, 0–2	0	—	3	—
3. Salicin	90	9–16, Sp–3	68	6–18	88	—
4. Helicin	77	Sp–4, 0	3	—	3	—
5. Vanillin	55	Sp–3, 0	7	2–3	35	—
6. α-Methylglucosid	90	10–17, Sp–3	65	10–20	90	—
7. β- „	90	9–17, Sp–3	70	9–19	92	—
8. Strophanthin	91	6–15, 0–2	58	5–15	89	—
9. Aloin	91	3–10, 0–2	62	3–15	77	—
10. Pikrotoxin	91	1–7, 0–Sp	60	2–14	75	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 22–30, S 5–9	80	S 7–15	92	—
2. Chinon	65	Sp–22, 0–7	0	—	4	—
3. Salicin	91	19–25, 3–6	78	6–10	91	—
4. Helicin	83	2–12, 0–3	8	0–2	4	—
5. Vanillin	80	Sp–6, 0–Sp	31	0–1	79	—
6. α-Methylglucosid	91	20–29, 4–8	79	7–14	92	—
7. β- „	92	17–28, 4–8	81	6–13	93	—
8. Strophanthin	91	12–23, 3–7	78	5–10	90	—
9. Aloin	93	8–21, 2–7	78	6–14	83	—
10. Pikrotoxin	92	3–15, 0–4	79	5–11	83	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 17–32	83	S 30–60	93	S 14–35
2. Chinon	65	4–20	0	—	6	0–11
3. Salicin	92	15–26	80	24–55	90	12–33
4. Helicin	89	6–12	15	0–30	30	0–22
5. Vanillin	89	3–9	31	0–26	88	0–20
6. α-Methylglucosid	94	16–28	83	24–56	93	13–31
7. β- „	95	11–27	85	21–55	93	13–32
8. Strophanthin	92	11–24	78	14–42	90	9–30
9. Aloin	94	10–26	80	20–57	85	10–31
10. Pikrotoxin	92	Sp–7	81	15–45	85	6–20
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 60–90	—	S 86–122	—	S 32–60
2. Chinon	—	25–57	—	—	—	v
3. Salicin	—	38–76	—	60–115	—	33–58
4. Helicin	—	17–64	—	v	—	v
5. Vanillin	—	20–43	—	v	—	v
6. α-Methylglucosid	—	34–68	—	73–113	—	27–55
7. β- „	—	35–70	—	75–115	—	30–60
8. Strophanthin	—	35–70	—	60–98	—	23–58
9. Aloin	—	35–65	—	62–108	—	25–56
10. Pikrotoxin	—	8–30	—	41–104	—	10–40
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 80–110	—	S 110–150	—	S 47–70
2. Chinon	—	50–90	—	—	—	v
3. Salicin	—	70–110	—	94–130	—	46–65

XXIV. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/50 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
4. Helicin	—	S 50—96	—	S v	—	S v
5. Vanillin	—	37—63	—	v	—	v
6. α-Methylglucosid .	—	60—100	—	100—135	—	38—60
7. β- „ .	—	57—106	—	100—140	—	40—63
8. Strophanthin . .	—	57—103	—	90—110	—	37—61
9. Aloin	—	52—98	—	92—130	—	38—60
10. Pikrotoxin	—	14—52	—	80—120	—	20—47

Die Wurzeln waren bei α- und β-Methylglucosid fast normal entwickelt, etwas geschwächt war die Wurzelbildung bei Salicin, mehr oder weniger größer war die Schädigung in zunehmender Reihenfolge bei Aloin, Pikrotoxin, Helicin, Vanillin, Strophanthin und Chinon.

XXV. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 13. XII. bis 10. I.
Zimmertemperatur: 7 bis 15° R.

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 1—6	89	W Sp—5	87	—
2. Amygdalin 1/200 Mol	85	1—4	71	Sp	74	—
3. „ 1/100 „	80	1—3	52	Sp	65	—
4. „ 1/50 „	72	Sp—2	18	Sp	26	—
5. Äsculin 1/250 „ [1]	89	1—4	85	Sp—4	86	—
6. Äsculetin 1/250 „ [1]	89	1—5	87	Sp—4	86	—
7. Daphnetin 1/250 „ [1]	87	1—5	86	Sp—4	85	—
8. Zimtsäure 1/250 „ [1]	39	Sp—2	0	—	41	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 5—11	91	W 5—10, S 2—5	90	—
2. Amygdalin 1/200 Mol	87	5—10	76	1—4, Sp—3	80	—
3. „ 1/100 „	85	4—9	62	Sp—4, Sp—3	72	—
4. „ 1/50 „	80	3—7	25	Sp—3, 0—2	57	—
5. Äsculin 1/250 „ [1]	91	4—9	86	2—8, 1—4	85	—
6. Äsculetin 1/250 „ [1]	90	4—9	84	3—9, 2—4	85	—
7. Daphnetin 1/250 „ [1]	90	5—10	86	3—9, 2—4	85	—
8. Zimtsäure 1/250 „ [1]	50	3—6	20	Sp, 0	53	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	96	S 4—9	92	S 18—31	91	S 8—16
2. Amygdalin 1/200 Mol	89	3—9	89	9—21	88	7—15
3. „ 1/100 „	89	2—7	89	7—17	87	5—12
4. „ 1/50 „	87	2—6	75	6—12	85	4—8
5. Äsculin 1/250 „ [1]	91	4—9	90	12—29	90	7—14

[1]) Bzw. eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung, da sich nicht alles löste.

XXV. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
6. Äsculetin 1/250 Mol [1]	92	S 4–9	89	S 17–31	92	S 7–15
7. Daphnetin 1/250 „ [1]	93	4–9	90	16–32	90	7–15
8. Zimtsäure 1/250 „ [1]	73	3–7	64	2–7	82	2–7
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 9–15	—	S 40–62	—	S 18–35
2. Amygdalin 1/200 Mol	—	8–15	—	28–51	—	15–33
3. „ 1/100 „	—	7–14	—	25–45	—	14–29
4. „ 1/50 „	—	6–10	—	24–38	—	13–24
5. Äsculin 1/250 „ [1]	—	8–13	—	36–60	—	16–32
6. Äsculetin 1/250 „ [1]	—	8–14	—	38–60	—	15–33
7. Daphnetin 1/250 „ [1]	—	8–15	—	38–60	—	16–33
8. Zimtsäure 1/250 „ [1]	—	7–14	—	15–30	—	9–26
Am 13. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 15–28	—	S 55–90	—	S 26–45
2. Amygdalin 1/200 Mol	—	13–26	—	52–77	—	22–40
3. „ 1/100 „	—	12–23	—	40–65	—	15–37
4. „ 1/50 „	—	11–21	—	40–60	—	12–31
5. Äsculin 1/250 „ [1]	—	14–25	—	52–87	—	21–40
6. Äsculetin 1/250 „ [1]	—	15–26	—	53–90	—	21–42
7. Daphnetin 1/250 „ [1]	—	14–27	—	54–90	—	22–43
8. Zimtsäure 1/250 „ [1]	—	9–22	—	38–52	—	12–36
Am 17. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 32–48	—	S 85–118	—	S 36–62
2. Amygdalin 1/200 Mol	—	30–47	—	83–108	—	33–60
3. „ 1/100 „	—	26–43	—	70–100	—	30–50
4. „ 1/50 „	—	24–40	—	70–98	—	28–46
5. Äsculin 1/250 „ [1]	—	30–45	—	82–110	—	31–55
6. Äsculetin 1/250 „ [1]	—	31–47	—	83–116	—	31–60
7. Daphnetin 1/250 „ [1]	—	31–46	—	84–115	—	32–59
8. Zimtsäure 1/250 „ [1]	—	20–41	—	70–88	—	24–50

Das Wurzelsystem war bei Amygdalin 1/200 Mol, Amygdalin 1/100 Mol, Äsculetin und Daphnetin nahezu normal entwickelt, schwächer war die Wurzelbildung bei Amygdalin 1/50 Mol und Zimtsäure, am schwächsten bei Äsculin.

XXVI. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 10. bis 21. III.
Zimmertemperatur: 8 bis 16° R.

1/200 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 3–11	84	W 3–10	90	W 1–6
2. Benzoesäure . . .	41	1–4	0	—	22	1–3

[1]) Bzw. eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung, da sich nicht alles löste.

XXVI. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/200 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Gerste	Keimprozente	Raps
3. Salicylsäure . . .	0	—	0	—	0	—
4. Kaffeegerbsäure .	88	W 2–8	69	W 2–7	83	W 1–5
5. Daphnetin[1]) . . .	77	2–8	55	2–6	75	1–4
6. Äsculetin[1]) . . .	82	2–8	62	2–8	82	1–4
7. Äsculin[1])	87	2–7	44	1–6	66	1–3
8. Zimtsäure[1]) . . .	0	—	0	—	9	Sp
9. Gallussäure . . .	66	1–5	69	2–8	79	1–4
10. Cumarin	81	1–11	79	2–9	89	1–5
11. Chinasäure . . .	81	1–10	61	2–9	77	1–4
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	91	W 10–19, S Sp–4	88	W 6–15	92	W 6–16, S 0–7
2. Benzoesäure . . .	45	2–10, 0–Sp	0	—	30	1–9, 0–2
3. Salicylsäure . . .	0	—	0	—	0	—
4. Kaffeegerbsäure .	79	5–12, 0–3	79	3–12	88	4–11, 0–5
5. Daphnetin[1]) . . .	80	3–9, 0–2	59	3–8	77	2–9, 0–4
6. Äsculetin[1]) . . .	82	4–11, 0–2	65	3–10	89	2–9, 0–4
7. Äsculin[1])	87	4–8, 0–2	48	1–7	70	1–7, 0–3
8. Zimtsäure[1]) . . .	7	1–3, 0	0	—	12	1–3, 0
9. Gallussäure . . .	66	4–12, 0–3	72	3–12	89	2–9, 0–4
10. Cumarin	81	7–19, Sp–4	82	3–16	92	3–14, 0–6
11. Chinasäure . . .	81	5–15, Sp–3	69	3–15	84	3–12, 0–5
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	92	W 21–42, S 7–12	91	S 10–30	93	S 8–22
2. Benzoesäure . . .	50	12–31, 2–9	15	W 5–16, S 0–3	70	0–11
3. Salicylsäure . . .	7	2–8, 0–2	0	—	7	—
4. Kaffeesäure . . .	84	11–30, 2–12	81	S 7–24	90	2–14
5. Daphnetin[1]) . . .	83	5–16, 2–11	75	3–19	85	2–10
6. Äsculetin[1]) . . .	85	5–16, 2–11	79	2–25	89	2–13
7. Äsculin[1])	90	5–14, 2–7	75	2–20	81	2–12
8. Zimtsäure[1]) . . .	21	1–10, 0–4	0	—	34	0–14
9. Gallussäure . . .	82	5–41, 0–15	82	2–22	91	4–16
10. Cumarin	81	15–40, 6–15	90	6–27	92	7–19
11. Chinasäure . . .	81	12–38, 5–12	76	4–25	90	6–18
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 12–22	92	S 23–65	94	S 15–39
2. Benzoesäure . . .	50	6–20	15	4–23	70	5–30
3. Salicylsäure . . .	10	2–7	0	—	8	3–10
4. Kaffeegerbsäure .	88	8–22	85	20–60	90	8–31
5. Daphnetin[1]) . . .	83	7–20	75	6–50	85	8–25
6. Äsculetin[1]) . . .	85	4–19	79	6–60	89	9–23
7. Äsculin[1])	90	2–13	75	8–35	81	8–22
8. Zimtsäure[1]) . . .	21	Sp–6	0	—	34	4–19
9. Gallussäure . . .	87	6–23	82	20–60	91	12–30
10. Cumarin	81	10–20	90	22–62	92	13–32
11. Chinasäure . . .	81	9–19	80	21–61	90	11–33

[1]) Die Quellungsflüssigkeit nicht dekantiert, sondern mit ihr das Keimbett befeuchtet.

XXVI. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/200 Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Gerste	Keim-prozente	Raps
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 30–50	—	S 44–105	—	S 35–58
2. Benzoesäure . . .	—	15–36	—	20–42	—	15–34
3. Salicylsäure . . .	—	9–14	—	—	—	14–28
4. Kaffeegerbsäure .	—	15–40	—	30–90	—	15–40
5. Daphnetin	—	16–36	—	24–85	—	14–40
6. Äsculetin	—	12–35	—	26–91	—	15–42
7. Äsculin	—	5–25	—	20–70	—	13–38
8. Zimtsäure	—	3–10	—	—	—	12–30
9. Gallussäure . . .	—	10–45	—	26–98	—	18–41
10. Cumarin	—	17–40	—	34–102	—	20–43
11. Chinasäure . . .	—	16–42	—	38–100	—	20–44

In der Wurzelbildung standen dem Kontrollversuch am nächsten die Keimpflanzen bei Kaffeegerbsäure, dann folgten mit zunehmender Schädigung des Wurzelsystems: Chinasäure, Cumarin, Gallussäure, Benzoesäure, Daphnetin, Äsculetin, Äsculin, Zimtsäure und Salicylsäure.

XXVII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 12. bis 28. VI.
Zimmertemperatur: 15 bis 17° R.

1/50 Mol pro 1 l Wasser	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 7–14	90	W 7–11	89	—
2. Benzoesäure . . .	0	—	0	—	0	—
3. Salicylsäure . . .	0	—	0	—	0	—
4. Saligenin	92	1–3	72	Sp–7	73	—
5. Salicylaldehyd . .	10	Sp–3	0	—	0	—
6. Benzaldehyd . . .	91	1–5	15	Sp	65	—
7. o-Cumarsäure[1]) . .	2	Sp–2	25	Sp	30	—
8. Cumarin[1])	0	—	0	—	3	—
9. Protocatechusäure	27	Sp–4	80	1–9	7	—
10. Mandelsäure . . .	4	Sp–3	61	1–8	4	—
11. Chinasäure	26	1–3	80	1–10	3	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 13–20, S 2–4	95	W 9–20, S 6–13	91	—
2. Benzoesäure . . .	0	—	0	—	0	—
3. Salicylsäure . . .	0	—	0	—	0	—
4. Saligenin	93	4–15, Sp–2	90	3–15, 1–6	87	—
5. Salicylaldehyd . .	54	1–6, 0–Sp	0	—	2	—
6. Benzaldehyd . . .	92	1–13, 0–2	57	2–8, 0–2	81	—
7. o-Cumarsäure[1]) . .	51	Sp–8, 0–Sp	56	2–9, 0–2	58	—

[1]) Nicht vollständig gelöst.

XXVII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/50 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
8. Cumarin[1]	0	—	0	—	0	—
9. Protocatechusäure	38	W 1–12, S 0–4	89	W 2–17, S 3–10	40	—
10. Mandelsäure . . .	7	1–4, 0–2	75	Sp–13, 0–6	4	—
11. Chinasäure	39	1–14, 0–4	81	2–17, 3–10	5	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 17–28, S 4–7	96	S 14–26	93	—
2. Benzoesäure . . .	0	—	0	—	0	—
3. Salicylsäure . . .	0	—	0	—	0	—
4. Saligenin	94	10–22, 2–5	94	5–15	93	—
5. Salicylaldehyd . .	77	1–7, 0–Sp	0	—	7	—
6. Benzaldehyd . . .	91	10–23, 2–6	83	1–7	87	—
7. o-Cumarsäure[1] . .	63	7–15, Sp–3	69	1–10	58	—
8. Cumarin[1]	0	—	0	—	9	—
9. Protocatechusäure	37	3–14, 2–6	90	10–21	42	—
10. Mandelsäure . . .	12	2–5, 0	75	2–11	4	—
11. Chinasäure	55	2–19, Sp–8	87	9–22	5	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 6–10	96	S 25–40	93	S 8–17
2. Benzoesäure . . .	0	—	0	—	0	—
3. Salicylsäure . . .	0	—	0	—	0	—
4. Saligenin	94	4–7	94	16–29	93	6–14
5. Salicylaldehyd . .	85	0–2	9	W 2–8, S 0–2	35	0–3
6. Benzaldehyd . . .	91	4–7	85	S 7–20	87	5–14
7. o-Cumarsäure[1] . .	69	3–5	79	2–19	60	2–11
8. Cumarin[1]	0	—	0	—	9	v
9. Protocatechusäure	60	3–8	92	14–30	50	2–10
10. Mandelsäure . . .	12	Sp–5	75	9–29	4	v
11. Chinasäure	65	5–12	87	15–35	5	3–8
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 12–23	96	S 60–90	93	S 19–32
2. Benzoesäure . . .	7	v	0	—	0	—
3. Salicylsäure . . .	2	v	0	—	0	—
4. Saligenin	94	8–19	94	39–68	93	15–29
5. Salicylaldehyd . .	85	2–10	9	6–18	35	5–9
6. Benzaldehyd . . .	91	9–20	85	23–53	87	14–32
7. o-Cumarsäure[1] . .	69	3–13	79	20–43	60	8–29
8. Cumarin[1]	0	—	0	—	9	v
9. Protocatechusäure	60	4–17	92	33–60	50	8–25
10. Mandelsäure . . .	12	v	75	30–55	4	v
11. Chinasäure	65	7–17	87	34–80	5	v
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 23–44	—	82–100	—	S 22–50
2. Benzoesäure . . .	—	—	—	—	—	—
3. Salicylsäure . . .	—	—	—	—	—	—
4. Saligenin	—	18–31	—	60–85	—	18–43
5. Salicylaldehyd . .	—	7–16	—	12–42	—	7–18
6. Benzaldehyd . . .	—	17–33	—	42–80	—	15–48
7. o-Cumarsäure[1] . .	—	6–18	—	30–70	—	10–40
8. Cumarin[1]	—	—	—	—	—	—

[1]) Nicht vollständig gelöst.

XXVII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

1/50 Mol pro 1 l Wasser	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
9. Protocatechusäure	—	S 11—28	—	S 60—95	—	S 10—35
10. Mandelsäure . . .	—	v	—	40—88	—	v
11. Chinasäure	—	10—30	—	50—92	—	v
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 48—72	—	S 108—130	—	S 35—65
2. Benzoesäure . . .	—	—	—	—	—	—
3. Salicylsäure . . .	—	—	—	—	—	—
4. Saligenin	—	43—60	—	86—120	—	28—50
5. Salicylaldehyd . .	—	27—51	—	56—84	—	18—42
6. Benzaldehyd . . .	—	41—64	—	70—112	—	25—55
7. o-Cumarsäure[1]) . .	—	20—42	—	69—108	—	17—50
8. Cumarin[1])	—	—	—	—	—	—
9. Protocatechusäure	—	28—52	—	90—128	—	19—48
10. Mandelsäure . . .	—	v	—	70—120	—	v
11. Chinasäure	—	21—56	—	82—123	—	v
Am 13. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 70—108	—	S 120—150	—	S 42—74
2. Benzoesäure . . .	—	—	—	—	—	—
3. Salicylsäure . . .	—	—	—	—	—	—
4. Saligenin	—	46—90	—	110—145	—	37—56
5. Salicylaldehyd . .	—	35—86	—	95—120	—	36—55
6. Benzaldehyd . . .	—	45—93	—	104—130	—	35—58
7. o-Cumarsäure[1]) . .	—	30—76	—	90—127	—	30—55
8. Cumarin[1])	—	—	—	—	—	—
9. Protocatechusäure	—	38—85	—	110—150	—	35—50
10. Mandelsäure . . .	—	v	—	105—138	—	v
11. Chinasäure	—	30—87	—	110—140	—	v

Am besten entwickelt waren die Wurzeln der Keimpflanzen bei Saligenin, dann folgten mit zunehmender Schädigung des Wurzelsystems: o-Cumarsäure, Benzaldehyd, Protocatechusäure, Mandelsäure, Chinasäure, Salicylaldehyd, bei Cumarin hatten nur einige Rapssamen verkümmerte Wurzeln, und endlich Benzoesäure und Salicylsäure, bei denen es überhaupt zu keiner Wurzelbildung bzw. Keimung gekommen ist.

XXVIII. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 19. V. bis 2. VI.
Zimmertemperatur: 13 bis 17° R.

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	90	W 5—9	90	W 2—10	94	—
2. Tannin 1/50 Mol, dekant.	90	4—8	85	2—5	81	—

[1]) Nicht vollständig gelöst.

XXVIII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Weißer Senf
3. Tannin $^1/_{50}$ Mol, befeuchtet	87	W 3–7	85	W 2–5	80	—
4. Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dekantiert	0	—	74	2–6	0	—
5. Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin	0	—	63	2–5	0	—
6. Kaffeegerbsäure $^1/_{50}$ Mol	10	1–4	87	2–6	10	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	91	W 14–22, S 2–4	93	W 10–21, S 4–9	96	—
2. Tannin $^1/_{50}$ Mol, dekant.	91	8–15, Sp–3	91	3–13, 2–6	87	—
3. Tannin $^1/_{50}$ Mol, befeuchtet	87	6–12, Sp–3	90	3–8, 2–5	87	—
4. Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dekantiert	5	—	86	3–13, 2–6	0	—
5. Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin	2	—	77	3–12, 2–5	0	—
6. Kaffeegerbsäure $^1/_{50}$ Mol	57	1–7, 0–2	92	4–14, 2–6	59	—
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 20–33, S 4–10	95	W 20–35, S 10–20	96	S 8–14
2. Tannin $^1/_{50}$ Mol, dekant.	93	10–24, 3–7	92	10–20, 5–16	90	0–14
3. Tannin $^1/_{50}$ Mol, befeuchtet	89	6–12, 3–7	91	2–10, 5–12	90	0–6
4. Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dekantiert	9	v 0–5	88	9–19, 3–16	3	—
5. Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin	2	v —	85	9–18, 3–13	0	W Sp, S 0
6. Kaffeegerbsäure $^1/_{50}$ Mol	75	9–28, 2–5	91	11–22, 6–16	65	— 0–7
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 13–23	96	S 30–57	96	S 14–30
2. Tannin $^1/_{50}$ Mol, dekant.	94	11–20	93	24–43	93	9–20
3. Tannin $^1/_{50}$ Mol, befeuchtet	90	8–20	92	17–28	90	4–14
4. Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dekantiert	12	6–13	88	22–43	5	v
5. Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin	4	2–10	87	20–41	0	—
6. Kaffeegerbsäure $^1/_{50}$ Mol	75	9–17	93	25–48	65	5–14
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	94	S 20–34	96	S 41–76	96	S 19–36
2. Tannin $^1/_{50}$ Mol, dekant.	94	17–29	93	36–68	93	10–30
3. Tannin $^1/_{50}$ Mol, befeuchtet	90	14–28	92	24–36	90	v
4. Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dekantiert	12	11–24	88	32–67	5	v
5. Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin	5	4–21	87	30–65	0	—
6. Kaffeegerbsäure $^1/_{50}$ Mol	76	10–24	93	35–70	65	v

XXVIII. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Weißer Senf
Am 10. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 34–55	—	S 92–130	—	S 25–48
2. Tannin $^1/_{50}$ Mol, dekant.	—	28–52	—	70–120	—	20–43
3. Tannin $^1/_{50}$ Mol, befeuchtet	—	26–45	—	46–80	—	v
4. Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dekantiert	—	20–40	—	65–118	—	v
5. Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin	—	4–23	—	60–115	—	—
6. Kaffeegerbsäure $^1/_{50}$ Mol	—	20–40	—	70–123	—	v

In der Entwicklung der Wurzeln blieben sämtliche Versuchssamen gegen den Kontrollversuch zurück, relativ am wenigsten benachteiligt wurden die Wurzeln der Keimpflanzen bei Tannin $^1/_{50}$ Mol dekantiert, größer war die Benachteiligung, insbesondere der Wicken- und Rapswurzeln, bei Kaffeegerbsäure und Gallussäure $^1/_{50}$ Mol, dann folgte Gallussäure, gleichprozentig mit Tannin $^1/_{50}$ Mol; die größte Schädigung erfuhren die Wurzeln bei Tannin $^1/_{50}$ Mol befeuchtet.

XXIX. Versuchsreihe.

Jahreszeitzeit und Versuchsdauer: 20. XII. bis 17. I.

Zimmertemperatur: 7 bis 15° R.

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Keim-prozente	Raps
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	80	W Sp–3	87	W Sp–3	90	—
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	75	Sp–3	85	Sp–2	80	—
3. Catechin 0,63%	80	Sp–3	51	Sp	88	—
4. Catechugerbsäure 0,63%	77	Sp–2	54	Sp	82	—
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	25	Sp–2	80	Sp	19	—
Am 4. Versuchstage:						
1. Wasser	91	W 5–8	92	W 4–7	92	—
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	89	4–7	90	2–6	80	—
3. Catechin 0,63%	87	4–7	85	2–5	88	—
4. Catechugerbsäure 0,63%	81	3–7	74	2–5	82	—
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	35	Sp–4	87	2–5	35	—
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	94	W 10–18, S 2–4	94	W 10–19, S 5–9	93	—
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	90	7–11, Sp–2	91	7–12, 3–7	89	—
3. Catechin 0,63%	90	8–16, Sp–3	87	6–11, 3–7	88	—
4. Catechugerbsäure 0,63%	88	7–15, Sp–3	87	3–11, 2–7	84	—
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	50	3–10, Sp–2	90	6–12, 3–7	40	—

XXIX. Versuchsreihe (Fortsetzung).

	Keimprozente	Wicken	Keimprozente	Weizen	Keimprozente	Raps
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 12–20, S 3–5	95	S 9–15	93	S 3–10
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	90	9–17, 2–4	91	5–9	90	2–7
3. Catechin 0,63 %	90	11–19, 2–5	87	5–10	90	3–8
4. Catechugerbsäure 0,63 %	90	11–18, 2–4	87	5–10	86	3–9
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	51	4–14, 2–4	90	5–10	40	0–5
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 4–8	95	S 15–25	94	S 5–17
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	91	3–7	91	10–20	90	3–11
3. Catechin 0,63 %	90	2–7	87	10–17	90	3–11
4. Catechugerbsäure 0,63 %	91	3–7	88	9–15	86	3–12
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	52	2–7	90	10–20	43	2–9
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	95	S 5–9	95	S 24–36	94	S 9–23
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	91	4–8	91	15–30	90	5–14
3. Catechin 0,63 %	91	3–8	88	17–29	90	5–14
4. Catechugerbsäure 0,63 %	91	4–8	88	16–26	86	5–15
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	52	3–8	90	19–30	43	3–10
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 8–15	—	S 35–57	—	—
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	—	7–13	—	32–46	—	—
3. Catechin 0,63 %	—	7–14	—	33–50	—	—
4. Catechugerbsäure 0,63 %	—	8–14	—	33–47	—	—
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	—	7–13	—	35–56	—	—
Am 13. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 12–21	—	S 50–70	—	S 25–47
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	—	9–16	—	48–68	—	18–32
3. Catechin 0,63 %	—	11–19	—	48–69	—	18–36
4. Catechugerbsäure 0,63 %	—	10–17	—	45–66	—	17–39
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	—	11–17	—	49–71	—	14–30
Am 15. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 17–28	—	S 57–86	—	S 26–50
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	—	14–25	—	55–84	—	19–35
3. Catechin 0,63 %	—	15–27	—	54–85	—	19–40
4. Catechugerbsäure 0,63 %	—	15–26	—	50–80	—	20–43
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	—	15–26	—	58–88	—	15–36
Am 17. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 22–40	—	S 66–100	—	S 30–55
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	—	20–37	—	65–97	—	26–40
3. Catechin 0,63 %	—	20–38	—	65–97	—	25–48
4. Catechugerbsäure 0,63 %	—	19–38	—	62–95	—	26–50
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	—	20–36	—	66–103	—	21–42
Am 20. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 35–65	—	S 77–125	—	S 40–67
2. Tannin $^1/_{25}$ Mol	—	32–58	—	75–122	—	30–60
3. Catechin 0,63 %	—	33–60	—	75–120	—	30–63
4. Catechugerbsäure 0,63 %	—	30–58	—	73–119	—	31–65
5. Protocatechusäure $^1/_{50}$ Mol	—	32–56	—	76–126	—	28–62

Die geringste Benachteiligung in der Entwicklung der Wurzeln zeigten die Keimpflanzen bei Catechin, ein klein wenig mehr wurde die Wurzelbildung durch Catechugerbsäure benachteiligt, etwas stärker durch Tannin, und relativ am meisten durch Protocatechusäure.

XXX. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 11. bis 29. XI.

Zimmertemperatur: 9 bis 16° R.

	Keim-prozente	Wicken	Keim-prozente	Weizen	Weißer Senf (Keimprozente)	Schwarzer Senf (Keimprozente)
Am 3. Versuchstage:						
1. Wasser	93	W 3–8	90	W 3–7	95	6
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	93	3–8	85	3–6	90	5
Am 4. Versuchstage;						
1. Wasser	95	W 13–17	93	W 10–20, S 4–8	96	14
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	95	10–17	91	8–19, 3–6	92	12
Am 5. Versuchstage:						
1. Wasser	95	W 20–25, S 3–5	93	S 8–16	96	28
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	95	17–24, 2–5	93	6–12	92	29
Am 6. Versuchstage:						
1. Wasser	—	—	—	—	96	37
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	—	—	—	—	93	38
Am 7. Versuchstage:						
1. Wasser	96	S 7–14	95	S 34–43	96	50
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	96	6–13	94	30–37	93	50
Am 8. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 9–16	—	S 42–55	S 15–35	51
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	—	8–16	—	40–53	15–35	50
Am 9. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 12–20	—	S 53–70	S 20–41	59
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	—	11–20	—	52–69	19–42	58
Am 11. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 20–40	—	S 70–100	S 30–53	59
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	—	18–38	—	70–98	30–52	58
Am 14. Versuchstage:						
1. Wasser	—	S 30–55	—	S 93–135	S 38–63	—
2. Sinigrin $^1/_{50}$ Mol . .	—	28–43	—	92–133	39–63	—

Die Entwicklung der Wurzeln wurde durch Sinigrin $^1/_{50}$ Mol kaum beeinflußt, das Wurzelsystem war dem des Kontrollversuchs nahezu gleich.

XXXI. Versuchsreihe.

Jahreszeit und Versuchsdauer: 11. bis 29. XI.

Zimmertemperatur: 9 bis 16° R.

	Keim-prozente	Schwarzer Senf	Keim-prozente	Schwarzer Senf
Versuchstag . .		3.		4.
1. Wasser	6	—	15	—
2. Sinigrin $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	10	—	26	—
Versuchstag . .		5.		7.
1. Wasser	28	W Sp—11, S 0—5	50	W 1—20, S 0—8
2. Sinigrin $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	46	Sp—15, 0—7	55	1—25, 0—24
Versuchstag . .		8.		11.
1. Wasser	52	S 0—14	59	S bei 35 %: 0—8, bei 24 %: 8—32
2. Sinigrin $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	56	0—29	60	bei 22 %: 0—8, bei 38 %: 8—38
Versuchstag . .		14.		
1. Wasser	59	S 9—44, davon 28 % aufrecht, 31 % liegend		
2. Sinigrin $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	60	9—50, davon 40 % aufrecht, 20 % liegend		
Versuchstag . .		18.		
1. Wasser	59	S 13—46, davon 30 % aufrecht		
2. Sinigrin $^1/_{100}$ Mol pro 1 l Wasser	60	14—60, davon 50 % aufrecht		

Zur Pathogenese der Lipämie.

Von

S. Sakai (Ise, Yamada, Japan).

(Aus der Medizinischen Poliklinik in Freiburg i. B.)

(Eingegangen am 6. April 1914.)

Mit 4 Figuren im Text.

I. Einleitung.

Vor einigen Jahren teilten Boggs und Morris[1]) eine interessante Beobachtung mit, die den Ausgangspunkt der folgenden Arbeit bildet: Bei Kaninchen, die durch häufig wiederholte Aderlässe anämisch gemacht worden waren, trat allmählich eine milchige Trübung des Serums auf, die in hochgradigen Fällen dem ganzen Blute eine milchschokoladenähnliche Färbung verlieh. Kurz gesagt, die anämischen Tiere bekommen eine Lipämie. Die chemische Untersuchung bestätigte den morphologischen Befund. Im Serum jener anämischen Kaninchen konnten Boggs und Morris erhebliche Fettmengen nachweisen. Während sie bei normalen Tieren einen Ätherextrakt im Serum fanden, der zwischen 0,3 und 0,5 $^0/_0$ sich bewegte, stieg er bei diesen lipämischen Tieren gelegentlich auf 4,5 $^0/_0$. Der Lecithingehalt des Fettes (als Phosphorpentoxyd bestimmt) betrug etwa 10 $^0/_0$. Cholesterin wurde nicht nachgewiesen. Indessen ist über die Technik des Cholesterinnachweises bei Boggs und Morris keine Angabe gemacht.

Etwa zu derselben Zeit wie Boggs und Morris beobachteten auch Morawitz und Pratt[2]) gelegentlich experimenteller Untersuchungen an anämischen Kaninchen oftmals Lipämien. Ihre Erfahrungen deckten sich völlig mit denen der amerikanischen Autoren. Von einer Publikation wurde

---

[1]) Boggs und Morris, Journ. of experim. Med. 11, 553, 1909.

[2]) Morawitz und Pratt, Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 35.

daher abgesehen. Nach mündlicher Mitteilung fanden Morawitz und Pratt die Lipämie nicht nur bei Anämien durch Aderlaß, sondern auch, wenn auch weniger regelmäßig und intensiv, auch bei Giftanämien, z. B. nach Injektion von Phenylhydrazin. Die Lipämie trat meist einige Tage nach Beginn der Anämisierung ein, um im weiteren Verlaufe der Beobachtung entweder ganz zu schwinden oder auch nach einiger Zeit wieder zu erscheinen.

Eine hinreichende Aufklärung der Pathogenese der anämischen Lipämie konnte weder in den Beobachtungen von Boggs und Morris noch auch in denen von Morawitz und Pratt beigebracht werden. Die ersterwähnten Autoren diskutieren die hierbei in Betracht kommenden Möglichkeiten. Sie halten es für recht wahrscheinlich, daß die starken Eiweißverluste, denen die Tiere während der Anämisierung ausgesetzt sind, jene Stoffwechselstörungen veranlassen, deren Folge die Lipämie ist. Daneben erwähnen sie noch die Möglichkeit ungenügender Oxydationen beim anämischen Tier. Das Blutfett leiten sie nicht aus dem Fett der Nahrung, sondern ausschließlich aus dem Körperfett her. Sie sehen also die Lipämie als Ausdruck einer Fettwanderung an. Als Anhaltspunkt für diese Anschauung dient das starke Schwinden des Subcutanfettes während der Lipämie und die häufigen Leberverfettungen.

Auch Milne[1]) bestätigte vor einiger Zeit die Häufigkeit der Lipämie bei experimentellen Anämien. Neues Material zur Erklärung bringt er nicht bei. Er äußert sich dahin, daß die anämische Lipämie der Ausdruck einer durch schlechte Sauerstoffversorgung des Organismus geschädigten Oxydationsenergie sei. Das kann jedoch schwerlich als zutreffend angesehen werden. Immer wieder taucht diese Anschauung auf und wird zur Deutung der verschiedenen, bisher bekannten Formen der Lipämie herangezogen. Mit Recht aber ist diese Ansicht schon von Magnus-Levy und L. F. Meyer[2]) sowie Oswald[3]) energisch zurückgewiesen worden. Gerade die Krankheit, bei der man die extremsten Grade der Lipämie beobachten kann, der schwere Diabetes mellitus mit Acidose resp. Koma, geht sicher nicht mit verminderter oder gestörter Oxydation einher. Das zeigen zur Genüge die Bestimmungen des respiratorischen Stoffwechsels schwerer Diabetiker, wie sie von Magnus-Levy[4]), Bene-

[1]) Milne, Arch. f. klin. Med. **109**, 401.

[2]) Magnus-Levy und Meyer, Fettstoffwechsel in Oppenheimers Handb. d. Biochem. **4**, 1.

[3]) Oswald, Chemische Pathol. **1907**, 208ff.

[4]) Magnus-Levy, Zeitschr. f. klin. Med. **56**, 83, 1905; **60**, 182, 1906.

dikt[1]) u. a. ausgeführt worden sind. Aber auch für die anämische Lipämie ist jene Erklärung unzutreffend. Bieling[2]) hat in unserem Institut mit einer von Morawitz angegebenen tonometrischen Methode das Kohlensäurebindungsvermögen des arteriellen Blutes anämischer Kaninchen untersucht. Nach den heute herrschenden Anschauungen muß sich ein Sauerstoffmangel durch Auftreten saurer Substanzen, dementsprechend also durch Sinken der CO_2-Aufnahmefähigkeit des Blutes, zu erkennen geben. Das war in Bielings Versuchen nun aber durchaus nicht der Fall, wenn die Anämie nicht eine gar zu schwere war. Eine Säuerung des Blutes ruhender Tiere wurde erst nachgewiesen, wenn der Hämoglobingehalt unter 20°/₀ gesunken war, d. h. also, erst dann trat ein meßbarer Sauerstoffmangel ein. Da in meinen, wie auch in den meisten der früheren Versuche so hohe Grade der Anämisierung nicht erreicht wurden, kann die Deutung von Milne wohl mit Sicherheit zurückgewiesen werden.

Eine Herabsetzung der Oxydationen im Organismus als Ursache lipämischer Blutveränderungen ist gänzlich unbewiesen und unwahrscheinlich. Jedenfalls sprechen alle bisher bekannten Tatsachen dagegen.

Ehe ich auf meine eigenen Beobachtungen eingehe, sei es mir gestattet, kurz den heutigen Stand der Lehre von der Lipämie zu skizzieren. In der 1903 erschienenen, groß angelegten Arbeit von B. Fischer[3]) findet sich eine kritische Besprechung der Literatur bis zu jenem Zeitpunkte. Da aber inzwischen unsere Anschauungen über Lipolyse mancherlei Wandlungen durchgemacht haben, sind einige kurze Bemerkungen doch erforderlich.

Unter Lipämie versteht man eine Trübung des Serums resp. Plasmas durch Fett. Hohe Grade der Lipämie sind schon am genuinen Blute erkennbar. Es zeigt die Farbe der Milchschokolade, wie auch in einigen meiner Beobachtungen. Indessen muß doch bemerkt werden, daß die einfache makroskopische Betrachtung nur unsichere Schlüsse sowohl auf das Bestehen als auch auf den Grad der Lipämie zuläßt. Am schönsten wird diese Tatsache durch die Beobachtungen Mieschers[4]) an Hungerlachsen illustriert. Bei ihnen findet eine starke Fettwanderung statt. Der Prozentgehalt des Fettes

[1]) Benedikt und Joslin, Metabolism in Diabetes mellitus. Washington 1910.

[2]) Bieling, diese Zeitschr. 60, 421.

[3]) B. Fischer, Virchows Archiv 172, 30 und 218.

[4]) F. Miescher, Histochem. u. physiol. Arbeiten. 2. Leipzig 1897.

im Blute kann bis auf 2% steigen. Trotzdem sieht das Blutserum völlig klar und durchsichtig aus. Es kann also ein relativ hohes Lösungs- resp. Maskierungsvermögen für Fette haben. Daß ähnliche Vorgänge auch für höhere Tiere Geltung haben können, ist wahrscheinlich. Der scheinbare Fettschwund, der bei Digestion von Chylus mit Blut erfolgt, wurde von Connstein und Michaelis[1]) als Ausdruck einer Lipolyse angesehen. Demgegenüber hat Mansfeld[2]) aber gezeigt, daß hier von einer echten Lipolyse nicht die Rede ist, daß es sich vielmehr lediglich um eine Maskierung der Fette handelt, vermutlich durch Anlagerung an Kolloide, scil. Serumeiweißkörper. Auch in anderen Zellen des Organismus scheint Ähnliches vorzukommen. Die sog. fettige Degeneration scheint ja häufig nichts anderes zu sein, als der Ausdruck eines Sichtbarwerdens von Fetten, die, wie die chemische Untersuchung zeigte, schon vorher in anderer Form in der Zelle vorhanden waren.

Daher darf man Urteile über Fehlen lipämischer Blutveränderungen nur gestützt auf chemische Untersuchungen abgeben.

Man pflegt die bisher bekannten Formen der Lipämie in physiologische und pathologische Lipämien einzuteilen. Nur für die ersteren ist die Pathogenese geklärt. Dazu gehört die allbekannte Verdauungs- oder Mästungslipämie, die beim Menschen regelmäßig nach fettreichen Mahlzeiten eintritt und von Bleibtreu[3]) besonders eingehend an gemästeten Gänsen studiert wurde. Nach Genuß von Milchfett beginnt, wie Neißer und Bräuning[4]) finden, die Trübung des Serums beim Menschen nach 1 bis 2 Stunden deutlich zu werden, nach ca. 6 Stunden ist die Höhe erreicht, nach 8 bis 10 Stunden ist das Serum wieder klar. Die Mästungslipämie geht also ziemlich schnell vorüber. Sie entsteht dadurch, daß der Eintritt von Fett in das Blut durch die Ductuslymphe schneller sich vollzieht als die Fettabgabe aus dem Blute in die Depots resp. Gewebe.

---

[1]) Connstein und Michaelis, s. Sammelreferat von Connstein, Ergebn. d. Physiol. 3, I, 194.

[2]) Mansfeld, Arch. f. d. ges. Physiol. 129, 126, 1909.

[3]) Bleibtreu, ebenda 85, 345, 1901.

[4]) Neißer und Bräuning, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 749, 1909.

So einfach und gut geklärt die Pathogenese der Mästungslipämie erscheinen mag, so gibt es doch auch hier manche schwer verständliche Beobachtungen: Bei einigen Tierspezies, besonders bei Kaninchen, sieht man selbst nach abundanten Fettgaben keine Lipämie auftreten. Das beschreiben schon Neißer und Bräuning. Auch ich kann diesen Befund durchaus bestätigen und werde noch darauf zurückkommen. Um so merkwürdiger ist es, daß Kaninchen, die unter normalen Verhältnissen selbst bei reichlicher Fettzufuhr nicht lipämisch werden, so leicht bei experimenteller Anämisierung eine „Spontanlipämie" zeigen.

Neben diesen physiologischen, schnell vorübergehenden Lipämien, die sicher durch exogene Fettzufuhr entstehen und der Deutung geringere Schwierigkeiten bieten, stehen die noch ganz ungeklärten pathologischen Lipämien, die bei einigen Krankheiten öfters beobachtet sind. Hier ist es zweifelhaft, wie weit die Lipämie überhaupt mit exogener Fettzufuhr etwas zu tun hat. Das bekannteste Prototyp der pathologischen Lipämien ist die Form, die bei schwerem Diabetes und im Koma beobachtet wird. Hier sind auch die höchsten, bisher bekannten Werte für den Fettgehalt des Blutes ermittelt worden. B. Fischer fand in seinem schon früher erwähnten Falle 18 % Fett im Blute und 23,4 % im Serum, Stadelmann[1]) 15 % Fett im Serum usw. Auch sonst ist die Literatur nicht arm an Berichten über exzessiv hohe Fettwerte bei schwerem Diabetes. Gelegentlich sah man auch Lipämie bei Fettsucht und chronischem Alkoholismus, meistens allerdings nur Lipämie geringeren Grades.

Endlich liegen auch eine größere Zahl von Befunden über Lipämie bei verschiedenen, meist experimentellen Intoxikationen (Phlorizin), im Hungerzustande, nach Pankreasexstirpation vor. Ich verzichte darauf, hier Einzelbeobachtungen aufzuführen und verweise auf die kritische Zusammenstellung von Magnus-Levy und Meyer.

Die Pathogenese aller dieser Lipämieformen ist noch nicht völlig geklärt. Das liegt an verschiedenen Momenten: Zunächst kann man meist nicht sicher angeben, wieweit Fettaufnahme

---

[1]) Stadelmann, Deutsche med. Wochenschr. 5, 349, 1902.

durch den Darm, also eine exogene Ursache, bei diesen Lipämien im Spiele ist, wieweit andererseits endogene Faktoren, scil. eine Fettwanderung im Organismus in Betracht kommt. Magnus-Levy[1]), einer der besten Kenner dieser Frage, ist z. B. der Ansicht, daß auch bei diesen Formen der Lipämie das Nahrungsfett der beherrschende Faktor ist. Andere Autoren neigen mehr der Annahme einer Fettwanderung im Sinne Rosenfelds zu. Für die Hungerlipämie ist ja diese Annahme allein zulässig. In manchen Fällen, z. B. bei Potatoren, Fettleibigen, Diabetikern werden sich wohl beide Vorgänge kombinieren. Dadurch gestalten sich die Verhältnisse noch unübersichtlicher.

Aber welcher Auffassung man sich auch zuneigen mag, den ganzen Symptomenkomplex der Lipämie kann man weder mit der einen noch mit der anderen Hypothese restlos aufklären. Wie kommt es, daß sich so enorme Fettmengen im Blute anhäufen? Wenn es sich wirklich nur um eine einfache Mastlipämie handeln sollte, dann müßte sie doch nach dem, was vorher ausgeführt wurde, spätestens 10 Stunden nach der Fettaufnahme wieder verschwunden sein, wenn alle übrigen Verhältnisse unverändert geblieben wären. Dasselbe gilt auch für die Fettwanderung. Wäre der Fettaustritt aus den Capillaren in die Gewebe normal, dann müßte in der allerkürzesten Zeit bei den extremen Lipämien das Depot im Unterhautgewebe und an anderen Stellen des Körpers geleert sein und der größte Teil des Körperfettes sich an anderen Stellen anhäufen, z. B. in der Leber. Ist doch der Fettgehalt des Gesamtblutes in einigen der oben beschriebenen Fälle ein ganz exzessiver. Im Falle B. Fischers kann man ihn auf etwa 700 g veranschlagen. Und trotzdem verarmt das Unterhautgewebe keineswegs rapid an Fett. Daraus geht m. E. zwingend hervor, daß die pathologische Lipämie oder wenigstens einige hierher gehörige Zustände viel stabiler sind als die flüchtige Nahrungs- oder Mastlipämie. Und diese relative Stabilität, die besonders in fortlaufenden, sich über mehrere Tage erstreckenden Untersuchungen erkannt wird, ist nur durch die Annahme zu erklären, daß das Fett bei jenen Lipämien die Blutbahn langsamer und schwerer verläßt als unter normalen

[1]) Magnus-Levy, Diabetes in Kraus-Brugsch, Spezielle Pathologie I, S. 24.

Verhältnissen. Das Fett ist gewissermaßen im Blute gefangen.

Zwei Momente spielen also für die Entstehung pathologischer Lipämien eine Rolle: Erstens eine Fettaufnahme in das Blut, mag sie nun exogen oder endogen sein. Zweitens ein relatives Unvermögen des Blutes, das Fett in der normalen Zeit herauszuschaffen.

Wie soll man sich aber diese zuletzt erwähnte Störung vorstellen? Darüber sind schon mancherlei Hypothesen geäußert worden. Man kann die Ursache für das Haften des Fettes im Blute erstens im Blute selbst, dann in den Capillaren und endlich in den Geweben suchen. Entweder: Im Blute kann das Fett nicht oder doch nur langsam in die Form übergeführt werden, in der allein es die Gefäßwände passieren kann. Oder die Capillaren werden undurchgängig. Oder endlich, die Gewebszellen verlieren in höherem oder geringerem Grade die Fähigkeit, Fett an sich zu reißen. Über alle diese Fragen weiß man leider bisher so gut wie nichts. Das ist ja verständlich, wenn man erwägt, daß man über die Art des Fettdurchtritts durch die Capillarwand sich noch keine definitiven Vorstellungen bilden konnte. Pflüger ist, wie B. Fischer bemerkt, zwar mehrfach mit aller Energie dafür eingetreten, daß Fett nur gelöst resp. verseift die Gefäßwände passieren kann. Ausreichende Beweise dafür fehlen aber auch jetzt noch völlig.

Von jenen obenerwähnten drei Möglichkeiten des Zustandekommens einer Lipämie von längerer Dauer ist eigentlich nur eine der Untersuchung zugänglich, nämlich die Frage, ob sich bei der Lipämie regelmäßig bestimmte Veränderungen des Blutes nachweisen lassen. Gewebszellen und Capillaren sind den heutigen Methoden nur wenig zugänglich.

Veränderungen des Blutes sind schon mehrfach für die Erklärung der Lipämie herangezogen worden. Stellt man sich auf den Standpunkt Pflügers, dann muß man erwarten, daß im Plasma oder in den Gefäßendothelien eine Lipase oder auch Esterase vorkommt, die den Austritt des Fettes aus dem Blute beherrscht. Verminderung oder Fehlen der Lipase könnte eine hinreichende Erklärung der Lipämie abgeben. Das glaubt B. Fischer in seinem Falle von Lipämie in der Tat gefunden zu haben. Der Fettgehalt des lipämischen Blutes des

Diabetikers nahm bei längerem Stehen an der Luft nicht ab. Sogar nach 3 Wochen war noch etwa derselbe Fettgehalt im Serum zu finden, wie unmittelbar nach der Blutentnahme. Endlich zeigte Fischer, daß normales Blut bei Digestion mit dem Ätherextrakt aus lipämischem eine deutliche Verminderung des Fettes bewirkt.

Fischer sieht hiernach die mangelnde Lipolyse des Diabetikers als bewiesen an. Er stützte sich aber bei seinen Untersuchungen auf die Technik von Connstein und Michaelis (l. c.). Nun wurde aber später durch Mansfeld (l. c.) die Existenz der Serumlipase von Connstein und Michaelis in Frage gestellt. Die Lipolyse von Connstein und Michaelis ist nach Mansfelds Untersuchungen, deren hier schon Erwähnung geschah, einfach durch sog. Maskierung der Fette bedingt. In Frankreich bekämpften Arthus[1]) sowie Doyon und Morel[2]) die Existenz der von Hanriot[3]) aufgefundenen Serumlipase. Damit schien die Frage einer Lipolyse durch Blut nach der negativen Seite hin erledigt. Ja, noch in neuester Zeit äußert sich Magnus-Levy[4]) dahin, daß nach Aufgeben der Vorstellung einer Lipolyse durch Blut jede Hoffnung, die pathologischen Lipämien zu deuten, einstweilen zurückgestellt werden muß. Auch Berczeller[5]) konnte sich in Tangls Laboratorium von der Existenz einer Serumlipase nicht sicher überzeugen.

In ein neues Stadium ist die Frage erst durch Fortschritte der Methodik getreten, die wir vor allem Rona und Michaelis[6]) danken. Auch ich habe anfangs mit dem alten Verfahren, also der Titration der freien Fettsäuren, mich nicht sicher von der Existenz einer Serumlipase oder gar irgendwelchen konstanten Änderungen bei Lipämie überzeugen können.

Die stalagmometrische Methode von Rona und Michaelis, eventuell in Kombination mit der optischen Methode Abder-

[1]) Arthus, Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. 1902, 56.

[2]) Doyon und Morel, Zahlreiche Arbeiten. Compt. rend. Soc. Biol. 1902 und 1903.

[3]) Hanriot, Arch. de Physiol. 1898, 797.

[4]) Magnus-Levy, l. c.

[5]) Berczeller, diese Zeitschr. 44, 193.

[6]) Rona und Michaelis, diese Zeitschr. 31, 345; 33, 413. — Vgl. ferner Rona, ebenda 32, 483.

haldens, ist jetzt schon von einer größeren Zahl von Autoren angewendet worden, so von Davidsohn[1]), Izar[2]), Bauer[3]) u. a. Alle Untersucher, die sich ihrer bedienten, finden eine Serumlipase. Eine Serumlipase oder Esterase existiert also in der Tat. Es wäre auch wunderbar, wenn das anders wäre, da wir ja im Körper zum mindesten ein Organ haben, dessen lipolytische Eigenschaften allgemein anerkannt sind, das Pankreas. Nach Analogie mit anderen Fermenten des Pankreas ist eine Resorption der Lipase in das Blut mindestens wahrscheinlich. Wenn die Lipase von manchen Autoren, wie auch im Anfang von mir, neuerdings auch noch von Thiele[4]), vermißt wird, so liegt das an der ungeeigneten Methodik des Nachweises und an der Geringfügigkeit der lipolytischen Funktion des Blutes.

Bei dieser veränderten Sachlage schien es aussichtsvoll, die Beobachtungen B. Fischers mit der neuen Methode zu prüfen.

Ich möchte hier noch hervorheben, daß Oswald[5]) eine Hypothese über die Entstehung der pathologischen Lipämie geäußert hat, die in manchen Punkten von der eben entwickelten abweicht. Seine Ansicht ist folgende: Das Fett fällt im Blute aus, weil dieses seine fettlösende Kraft verloren hat. Die Lymphe, die wenig oder kein gelöstes Fett enthält, belädt sich in den Fettdepots wieder von neuem, und auf diese Weise kommt die Lipämie zustande. Unter den Faktoren, die jene Änderung des fettlösenden Vermögens bewirken, meint Oswald der Acidose die größte Bedeutung zuschreiben zu müssen. In der Tat sieht man ja Lipämie besonders bei solchen Zuständen auftreten, die mit abnormer Säurebildung einhergehen. Immerhin besteht aber durchaus kein engerer Zusammenhang. Viele Fälle von diabetischem Koma verlaufen ohne Lipämie. Auch bei der experimentellen Anämie des Kaninchens läßt sich, wie Bieling fand, eine Säuerung des arteriellen Blutes entweder gar nicht oder doch nur bei sehr schweren Graden der Anämie nachweisen. Generelle Bedeutung kann also die Acidose für die Entstehung einer Lipämie kaum besitzen. Ob sie als unterstützendes Moment in Frage kommt, erscheint mir möglich, aber nicht gerade sehr wahrscheinlich. Auch kann man sich — und dieser Umstand scheint mir noch bedeutsamer gegen die Oswaldsche Vorstellung zu sprechen — schwer denken, daß die chemischen Eigenschaften der Gewebslymphe

[1]) Davidsohn, diese Zeitschr. 49, 249.
[2]) Izar, diese Zeitschr. 40, 390.
[3]) Bauer, Wiener klin. Wochenschr. 1912, Nr. 37, S. 1376.
[4]) Thiele, Biochem. Journ. 7, 1913.
[5]) Oswald, Chemische Pathologie. A. a. O.

von denen des Blutplasmas oder -serums so verschieden sein sollten. Die Lymphe soll Fett lösen, im Blute soll es wieder ausfallen. Daraus ergibt sich eine weitere Schwierigkeit. Endlich sprechen alle bisherigen histologischen Untersuchungen dafür, daß das Fett bei pathologischen Lipämien im Blute in ganz derselben Form sich findet wie bei der gewöhnlichen Nahrungslipämie. Man sieht — ich verweise auf B. Fischer — dieselbe staubförmigfeine Emulsion, die Aufrahmung geschieht etwa in gleicher Weise usw. Da die physiologische Nahrungslipämie im schnell vorübergehenden Zustand ist, die pathologische aber etwas viel Stabileres darstellt, kann man der Form, in der das Fett sich morphologisch im Blute befindet, schwerlich eine große Bedeutung für die Pathogenese der pathologischen Lipämien zusprechen.

Allerdings begegnet man in der Literatur mehrfach der Angabe, daß das Fett bei der Mästungslipämie sich ohne weiteres aus dem Blutserum ausäthern läßt, bei pathologischen Lipämien nicht. Durchgreifend ist dieser Unterschied aber nicht. Bisweilen kann man auch bei der Mästungslipämie nach Ausäthern kein klares Serum erhalten. Andererseits geht bei pathologischen Lipämien, wie z. B. bei meinen anämischen Kaninchen, ein Teil des Fettes ohne weiteres in den Äther über. Boggs und Morris haben das nicht gesehen. Woran die Differenzen liegen, kann ich nicht aufklären.

Jedenfalls ist man, wie ich meine, einstweilen nicht berechtigt, die Entstehung einer pathologischen Lipämie auf die Bildung von Fett-Eiweißverbindungen zurückzuführen, wobei das Eiweiß als eine Art „Schutzkolloid" (Mansfeld) den Austritt des Fettes aus der Blutbahn verhindern soll. Doch will ich zugeben, daß diese Frage noch der Untersuchung bedarf. Im ganzen dürfte es sich wohl empfehlen, zunächst bei der früher erwähnten, von B. Fischer, Magnus-Levy u. a. vertretenen Theorie über die Pathogenese der Lipämie stehen zu bleiben: Exogenes oder endogenes Fett gelangt in die Blutbahn und verläßt diese langsamer als unter normalen Verhältnissen.

Ein neuer, höchst beachtenswerter Gesichtspunkt ist in die Lehre von der Lipämie durch die Untersuchungen von G. Klemperer und Umber[1]) gebracht worden. Diese Autoren fanden, daß die diabetische Lipämie eigentlich eine Lipoidämie ist. Das heißt also: nicht nur das Neutralfett, sondern auch die Lipoide, speziell Lecithin und Cholesterin, sind im Blute lipämischer Diabetiker vermehrt. Schon B. Fischer hatte auf

[1]) Klemperer und Umber, Zeitschr. f. klin. Med. **61**, 1907; **65**, 1908. — Vgl. ferner Klemperer, Deutsche med. Wochenschr. **1910**, 2373.

den Cholesteringehalt des Fettes aus lipämischem Diabetikerblut hingewiesen. Daß es sich aber hierbei, soweit wenigstens die diabetische Lipämie in Betracht kommt, um eine scheinbar ziemlich regelmäßige Erscheinung handelt, ist erst durch Klemperer und Umber bekannt geworden. Auch die Befunde aus neuester Zeit, die mit den neuen Methoden der Cholesterinbestimmung ausgeführt wurden, haben diese Tatsache stets wieder bestätigt, so z. B. die Untersuchungsreihe von Beumer und Bürger[1]). Ich gebe hier einige der von den Autoren gefundenen Werte bei diabetischer Lipämie.

Tabelle I.
Klemperer und Umber.
In 100 g Blutserum.

Fall	Äther-extrakt	Cholesterin	Lecithin	Gewogene Fettsäuren
1	1,715	0,389	0,1093	0,9588
2	1,6642	0,3296	0,1581	0,9581
3	4,5919	0,9142	0,5425	2,987
4	1,032	0,3493	0	0,2175

Tabelle II.
Beumer und Bürger.

Fall	In 100 g Blutserum sind enthalten:				
	Ätherextrakt	Cholesterin	Cholesterin-ester	Lecithin	Fettsäuren
15	2,7954	0,1661	0,3146	0,3251	0,2196
24	3,3376	0,1441	0,4450	0,5571	0,1452
30	1,8337	0,0919	0,3204	0,3460	0,1182

Beumer und Bürger finden also, daß der größte Teil des Cholesterins als Cholesterinester im Blute zirkuliert. Sie machen ferner darauf aufmerksam, daß die Lipämie in einem ihrer Fälle nach einigen Hafer- und Gemüsetagen verschwand. Das Serum war wieder klar. Trotzdem blieb der Cholesteringehalt noch immer erhöht.

Die Angaben von Klemperer und Umber haben also durchaus Bestätigung gefunden. Das Blutfett bei diabetischer

[1]) Beumer und Bürger, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther **18**, 1913.

Lipämie entspricht in seiner Zusammensetzung keineswegs dem Fett der Depots, besonders des Unterhautgewebes. Der Gehalt an Lipoiden, speziell Cholesterin, weist auf eine andere Quelle hin. Klemperer und Umber haben sich bemüht, festzustellen, von welchen Organen das Cholesterin stammen kann. Sie analysierten verschiedene cholesterinreiche Organe eines im Koma verstorbenen Diabetikers, konnten aber eine deutliche Cholesterinverarmung nirgends nachweisen. Später hat Klemperer seine Anschauung über die diabetische Lipoidämie dahin präzisiert: Ein einfacher Fetttransport kann nicht vorliegen, wenigstens kein Transport aus dem Unterhautgewebe. Ebensowenig läßt sich eine Cholesterinverarmung in Gehirn, Leber, Niere, Muskeln und namentlich Knochenmark nachweisen. Auch aus der Nahrung dürfte das Cholesterin nicht stammen; denn sehr cholesterinarm ernährte Hunde halten den ursprünglichen Cholesteringehalt ihres Blutes zähe fest. Das in der Nahrung enthaltene Cholesterin scheint also nicht von ausschlaggebender Bedeutung für den Cholesterinspiegel des Blutes zu sein. Klemperer vertritt die Anschauung, die Lipoidämie der Diabetiker komme zustande durch den im schweren Diabetes vermehrten Ab- und Aufbau von Zellen. Die diabetische Lipämie sei nichts anderes als eine Mobilisierung von Zellipoiden zum Aufbau neuer Zellen. Übrigens machen Beumer und Bürger darauf aufmerksam, daß auch in einem ihrer Fälle der Cholesteringehalt der Nebenniere nicht vermindert war.

Die Klempererache Anschauung vom Wesen der diabetischen Lipoidämie hat trotz Anerkennung alles Tatsächlichen keinen allgemeinen Anklang gefunden. Magnus-Levy[1]) ist geneigt, trotz aller gegenteiligen Beobachtungen doch dem Fett resp. den Lipoiden der Nahrung die wichtigste Rolle für das Entstehen der Lipoidämie zuzuschreiben, ebenso Menyhért[2]). Demgegenüber schließt sich Weil[3]) der Ansicht Klemperers an. In einem Falle schwerer Nephritis fand er eine Lipämie von über 3% mit erheblicher Vermehrung des Lecithins (0,688%). Da die Nahrungsaufnahme in seinem Falle sehr gering war, hält er es für ganz unwahrscheinlich, daß die Lipoide aus der Nahrung stammen könnten.

Die Frage, wieweit die Ernährung für die Pathogenese pathologischer Lipämien bedeutsam ist, scheint also noch der

[1]) Magnus-Levy, „Diabetes“ in Kraus-Brugsch, l. c.
[2]) Menyhért, Wiener med. Wochenschr. 1911, Nr. 47.
[3]) Weil, Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 39, S. 2098.

Klärung zu bedürfen, um so mehr, als auch die Argumentationen Klemperers nicht durchaus beweisbar oder gesichert sind. Vor allem weiß man doch noch gar nichts Sicheres darüber, ob der Ab- und Aufbau von Zellen bei schwerem Diabetes wirklich in so hohem Maße gesteigert ist. Viel mehr gesteigert ist er sicher bei der Leukämie. Und gerade dort wird von besonders häufigem Vorkommen von Lipämien nichts berichtet. Es müssen dabei also noch andere Momente mit im Spiele sein.

Bei der großen Zahl wenig gesicherter Hypothesen schien es erwünscht, eine Art pathologischer Lipämien gründlich zu untersuchen, eine Art der Lipämie, die man willkürlich hervorrufen kann und deren Eintreten man bis zu einem gewissen Grade beherrscht. Das ist die von Boggs und Morris entdeckte Lipämie anämischer Kaninchen.

Es sollten hier folgende Fragen beantwortet werden:

1. Welchen Einfluß hat Nahrungsaufnahme auf Entstehung und Verlauf der Lipämie?

2. Wie ist die chemische Zusammensetzung der Fette resp. Lipoide des Blutserums?

3. Welche Änderungen der lipolytischen Kraft des Blutserums und der Organe lassen sich nachweisen?

II. Methodik.

Als Versuchstiere dienten durchweg Kaninchen.

1. Die Anämisierung geschah bei dem größeren Teile der Tiere (27) durch häufig wiederholte Aderlässe, die täglich oder alle 2 Tage ausgeführt wurden. Die Menge des entnommenen Blutes schwankte. Ich richtete mich stets nach dem nach Autenrieth ermittelten Hämoglobingehalt der Tiere. War der Hämoglobingehalt sehr niedrig, dann wurden auch die Blutentnahmen kleiner bemessen.

Zur Blutentnahme bediente ich mich der Saugglocke wie Zahn[1]), die es leicht ermöglicht, in schonendster Weise selbst Anämien von längerer Dauer hervorzurufen. Bei einiger Übung ist das Verfahren von Zahn den bisher üblichen (Xylolbehandlung des Kaninchenohrs, Hyperämiesierung usw. durch mechanische Reize) weit überlegen. Die einzige, durch Übung leicht zu überwindende Schwierigkeit liegt darin, daß man das Ohr einerseits luftdicht in die Saugglocke bringen muß, andererseits aber die zuführenden Gefäße nicht abklemmen darf. Anämien von 20% Hämoglobingehalt und weniger können hierdurch leicht hervorgerufen werden.

---

[1]) Zahn, Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 16.

Eine andere Versuchsreihe führte ich mit Giftanämien aus. Ich wollte mich davon überzeugen, ob auch bei Giftanämien ähnliche lipämische Erscheinungen auftreten. Ich bediente mich dazu einer 1%igen Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin. Die Injektionen wurden täglich ausgeführt. Ich begann mit ½ ccm der Lösung und stieg nach Maßgabe des Hämoglobingehaltes mit den Dosen langsam an, da man ja durch zahlreiche Untersuchungen von Tallqvist[1]), Itami und Pratt[2]), Pappenheim[3]) und seinen Schülern weiß, daß die Resistenz der Tiere gegen das Gift im Laufe der Anämie durch Phenylhydrazin stark ansteigt.

2. Der Einfluß der Ernährung auf die Entwicklung der Lipämie wurde durch Verabfolgung verschiedener Fette studiert, die meist mit der Schlundsonde gegeben wurden. Ich wählte Palmin, Milchfett und Olivenöl. In einer Versuchsreihe, die mir von Herrn Dr. Zahn zur Verfügung gestellt wurde, war auch der Einfluß einer Fütterung von Traubenzucker studiert. Ich verweise bzw. alles Näheren auf die Protokolle.

3. Zur Bestimmung der Fette und Lipoide wurden 10 bis 30 ccm Blutserum nach der Vorschrift von Berczeller (l. c.) in 50 bis 100 ccm Alkohol absolutus aufgefangen. Es empfiehlt sich, das Serum nur tropfenweise in den Alkohol fließen zu lassen. Es bilden sich dann feinere Gerinnsel und die Extraktion ist vollständiger. Die Alkohol-Blutmischung wird dann auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wurde nach Schimidzu[4]) verseift und die Fettsäuren nach dem Verfahren von Kumagawa und Suto[5]) als Petrolätherextrakt bestimmt.

Zur quantitativen Trennung der unverseifbaren Substanzen vom Fett bediente ich mich ebenfalls des Verfahrens von Kumagawa-Suto.

Die Cholesterinbestimmung geschah nach dem colorimetrischen Verfahren von Autenrieth, mit dem ich, wie eine Anzahl von Kontrolluntersuchungen zeigten, hinreichend genaue Werte ermitteln konnte. Ich verweise auf die Originalbeschreibung der Methodik. Autenrieth und Funk[6]), unter deren Leitung ich die veröffentlichte Methode erlernen durfte, haben vergleichende Bestimmungen des Cholesterins im Blutserum meiner lipämischen Kaninchen einerseits mit der ziemlich umständlichen Methode von Kumagawa-Suto-Schimidzu, andererseits mit ihrer colorimetrischen Methode ausgeführt. Sie fanden folgende Zahlen:

	I	II	III	IV	V	
Nach Kumagawa-Suto-Schimidzu	80 bis 81	56 bis 58	61 bis 62	32 bis 34	30 bis 31	mg
Nach Autenrieth-Funk	88	60 bis 62	68	40	35	mg

[1]) Tallqvist, Über experimentelle Blutgiftanämien. Helsingfors 1900.

[2]) Itami und Pratt, diese Zeitschr. 18.

[3]) Pappenheim und seine Schüler. Zahlreiche Arbeiten in Folia haematol. Archiv 1911 bis 1913.

[4]) Schimidzu, diese Zeitschr. 28, 237.

[5]) Kumagawa-Suto, ebenda 8, 210.

[6]) Autenrieth und Funk, Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 23.

Die colorimetrische Methode gibt hier also fast immer höhere Werte, als das andere Verfahren.

Von den beiden von Autenrieth und Funk vorgeschlagenen Methoden der Äther- und Chloroformmethode wählte ich die letztere, da es so besser gelingt, klare Lösungen zum colorimetrischen Vergleiche zu gewinnen.

4. Zur Bestimmung der Lipase im Blutserum und in den Organen diente die stalagmometrische Methode von Rona und Michaelis (l. c.), nachdem ich anfangs es vergeblich mit der Säuretitration versucht hatte. Diese ergab mir in keinem Falle zuverlässige Zeichen von Lipolyse.

Die Untersuchung auf Lipase nahm ich in folgender Weise vor: Zu 20 ccm einer frisch bereiteten wässerigen Tributyrinlösung (Kahlbaum) wurden 0,2 ccm Serum und 0,4 ccm Phosphatgemisch (1 Teil $^n/_3$-Phosphat + 7 Teile $^n/_3$-sekundäres Phosphat) zugesetzt. Diese Mischung wurde mit einer Wasserstrahlpumpe in ein Traubesches Stalagmometer gesaugt und die Tropfenzahl sofort, sowie nach 20 bis 30 Minuten gezählt. Das von mir benutzte Stalagmometer war so beschaffen, daß der Inhalt des Gefäßes 10 ccm und der Wert der Capillare für die Tributyrinlösung 119 Tropfen und für reines Wasser nur 77 Tropfen bei 18° betrug.

Das Stalagmometer steckte in einem Wassermantel, durch den während des Versuches Wasser von konstanter Temperatur zirkulierte.

Die folgende Kurve wurde durch empirische Eichung der Capillare nach dem Vorgange von Rona gewonnen. Aus der Kurve lassen sich die einer ermittelten Tropfenzahl entsprechenden Tributyrinkonzentrationen ablesen.

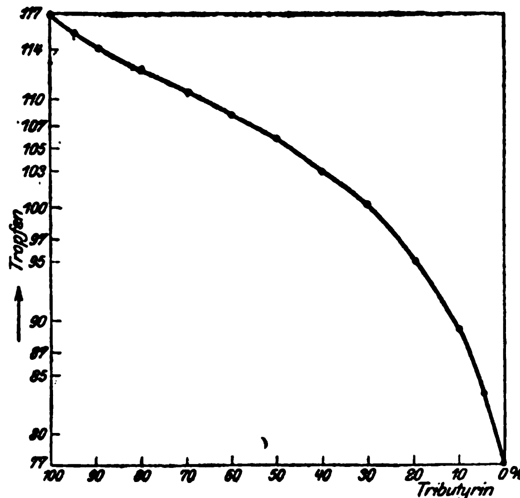


Fig. 1.

Wenn wir die oben gezeichnete Konzentration und die Tropfenzahl der Tributyrinlösung übersichtlich anführen wollen, so sind sie die folgenden:

Tropfenzahl	Konzentration %	Tropfenzahl	Konzentration %
118	10,6	98	2,7
117	9,7	97	2,5
116	9,5	96	2,1
115	9,3	95	2,0
114	9,0	94	1,9
113	8,5	93	1,7
112	8,0	92	1,5
111	7,5	91	1,4
110	7,0	90	1,2
109	6,5	89	1,0
108	6,0	88	0,8
107	5,5	87	0,7
106	5,0	85	0,5
105	4,7	84	0,4
104	4,4	83	0,3
103	4,0	82	0,25
102	3,7	81	0,1
101	3,4	80	0,1
100	3,0	79	0,05
99	2,9	78	0,05

Die Geschwindigkeit des Umsatzes läßt sich demnach für das Tributyrin durch die Gleichung einer monomolekularen Reaktion ausdrücken, so daß sich für die Geschwindigkeitskonstante nach Rona der Wert

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x}$$

ergibt, wobei x die in der Zeit t umgesetzte, a die ursprünglich vorhandene Menge Tributyrin bedeutet.

Die Untersuchung auf Lipase resp. Esterase in den Organen geschah ebenfalls nach dem von Rona angegebenen Verfahren: Das gewogene Organstück (0,3 bis 1,0 g) des entbluteten Kaninchens wurde klein geschnitten und in einem Mörser fein zerrieben. Das Organ wurde nun mit der 5fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung angesetzt, in einer mit Glasperlen versehenen Flasche 15 Minuten in der Schüttelmaschine geschüttelt und 2 Stunden in den Eisschrank gestellt. Das Gemisch wurde dann in einer elektrischen Zentrifuge etwa 15 Minuten zentrifugiert und die abgehobene Flüssigkeit zur Untersuchung verwandt. Zu jedem Versuche kamen je 0,6 ccm des Organextraktes zur Verwendung, der zu je 20 ccm der gesättigten wässerigen Tributyrinlösung und 0,6 ccm des Phosphatgemisches hinzugefügt wurde.

III. Versuche.

1. Der Einfluß der Ernährung auf die Lipämie des anämischen Kaninchens.

Zunächst bestätigten meine Versuche durchweg die von Boggs und Morris hervorgehobene Tatsache, daß Kaninchen

nach Aderlässen scheinbar regelmäßig in kürzerer oder längerer Zeit eine Lipämie bekommen. In nur einem meiner 27 Versuche habe ich das Eintreten der Lipämie ganz vermißt, ob die Tiere nun vorwiegend mit Milch oder mit Hafer und Gemüse (Dickrüben), also fettarmer Nahrung, gefüttert wurden. Im einzelnen ergaben sich allerdings recht erhebliche Unterschiede. Bei einigen Tieren trat die Lipämie schon sehr schnell, nach wenigen Aderlässen, auf, bei anderen langsamer. Im ganzen zeigten sich die ersten Erscheinungen bei einem Hämoglobingehalt zwischen 20 und 30%. Sie bestanden dann meist einige Tage in größerer Intensität, um dann allmählich abzuklingen. Setzte man die Anämisierung dann noch weiter fort, dann gelang es nur in der Minderzahl der Fälle, noch einmal einen ähnlich intensiven Grad der Lipämie zu erreichen wie bei Beginn des Versuchs.

In Bestätigung der Versuche von Boggs und Morris konnte auch ich feststellen, daß im Laufe der Anämisierungsperiode eine recht starke Abmagerung der Tiere eintrat, die vorwiegend das Unterhautfettgewebe betraf. War ein Tier während einer intensiven Lipämie gestorben, dann fand ich bisweilen bei der Autopsie eine stark ausgesprochene Fettleber, wie das Morawitz und Pratt in früheren Versuchen bereits festgestellt hatten.

Ein eindeutiger und sicherer Einfluß der Nahrung trat in meinen Versuchen nicht zutage, insofern, als auch bei fettarmer Ernährung Lipämie auftreten kann. Indessen schien es mir — ein Urteil konnte ich natürlich erst nach Beendigung einer größeren Versuchsserie abgeben —, daß die Lipämie bei mit viel Fett gefütterten Tieren schneller auftrat und intensivere Grade erreichte. Immerhin gab es zahlreiche Ausnahmen von dieser Regel. Es schien also nicht ausschließlich die Ernährung von Einfluß auf das Eintreten der Lipämie, sondern auch andere Faktoren. Unter diesen glaube ich dem ursprünglichen Ernährungszustande des Tieres eine größere Bedeutung beimessen zu dürfen. Gutgenährte, fette Tiere zeigten in meinen Versuchen im allgemeinen einen höheren Grad von Lipämie als magere, elende.

Der Grad der Lipämie wurde in diesen Versuchen nach der Farbe des spontan abgepreßten Serums geschätzt.

Einige Protokolle mögen das Eintreten und die Intensität der lipämischen Blutveränderung illustrieren.

Versuch 1.

Brotfütterung.

Datum	Körpergewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
3. VIII.	1820	62,5	29	—
4.		—	—	—
5.		40	28	—
6.		35	15	—
7.		28	20	—
8.		24,5	8	schwach
9.	1470	24,5	15	mäßig
10.		23	—	schwächer
11.	Tier gestorben			

Hier handelte es sich um ein schwaches, elendes Tier, das von Anfang an schlecht genährt und sehr mager war. Der folgende Versuch wurde an einem sehr kräftigen, wohlgenährten Tiere ausgeführt.

Versuch 3.

Brotfütterung.

Datum	Körpergewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
5. IX.	2470	52	35	—
6.		30	25	—
7.		26	30	—
8.		24,5	18	schwach
9.		21,5	15	stark
10.		19	—	„

Durch Entbluten getötet.

Im ganzen wurden 8 Versuche mit Brotfütterung ausgeführt, zum Teil mit Superposition größerer Fettgaben. Soweit die Versuche nicht durch die einmalige reichliche Fettdarreichung — darüber wird später noch gehandelt werden — für die Beurteilung unserer Frage unbrauchbar geworden sind, kann man folgendes sagen: Auch bei reiner Brotnahrung kann bei anämisierten Kaninchen Lipämie auftreten. Sie ist aber meist nicht sehr intensiv. Der oben im Protokoll wiedergegebene

Versuch 3 ist der einzige, in dem bei reiner Brotdiät eine wirklich intensive Lipämie zu beachten war.

Etwas anders fielen 11 Versuche mit reiner Milchdiät aus. Hier habe ich mit Ausnahme eines einzigen Falles, bei dem die Lipämie während der ganzen Dauer des Versuchs schwach blieb, regelmäßig ein stark milchig getrübtes Serum gewonnen. Der hohe Grad der Lipämie blieb hier — im Gegensatz zur Brotfütterung — oft ziemlich lange Zeit bestehen, um erst nach mehreren Tagen an Intensität abzunehmen.

Einige Versuchsprotokolle mögen diese Tatsachen belegen. Ich möchte dabei hervorheben, daß es bei den mit Milch gefütterten Kaninchen ziemlich gleichgültig zu sein scheint, ob die Tiere sich von vornherein in gutem oder in schlechtem Ernährungszustande befunden hatten, mager oder fettreich gewesen waren.

Versuch 2.
Milchfütterung.

Datum	Körpergewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
16. VIII.	1010	79	15	—
17.		62	10	—
18.		32	10	—
19.		30	—	—
20.		27	5	—
21.		26	6	stark
22.		26	—	"
23.	1070	28,5	—	"
24.		35	—	schwächer
25.		35	—	"
26.		35	—	"

Bei dem kleinen, schwach genährten Tier 2 war also bei Milchfütterung eine starke Lipämie entstanden. Dabei hatte dieses Tier im Gegensatze zu der übergroßen Mehrzahl während der Anämisierung zugenommen. Ganz analoge Protokolle geben noch 4 und 5 der Milchfütterungsversuche. In den meisten Versuchen tritt allerdings auch bei Milchfütterung die Kachexie ein.

Das folgende Protokoll 7 unterrichtet über das Verschwinden der Lipämie während der Dauer der Anämisierung, obwohl die Anämie in demselben Grade fortbestand. Das prägt sich überhaupt in vielen meiner Protokolle aus. Die starke Lipämie dauert nur relativ kurze Zeit, höchstens 4 oder 5 Tage. Später-

hin ist es schwer, trotz Weiterbehandlung des Tieres, nochmals denselben Grad der Blutveränderung zu erreichen.

Versuch 7.
Milchfütterung.

Datum	Körpergewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
16. IX.	2470	52	30	—
17.		—	20	—
18.		—	16	—
19.		—	15	Spur
20.		30	14	schwach
21.		—	—	—
22.		—	13	schwach
23.		26	15	"
24.		—	15	"
25.		—	15	"
26.		22	15	mäßig
27.		—	10	stark
28.		—	—	—
29.		19,5	15	stark
30.	2050	—	7	mäßig stark
1. X.		21	10	Spur
2.		—	10	"
3.		18	—	—
4.		14	—	—

Kachektisch gestorben.

Mit Entwicklung der Kachexie schwindet auch die lipämische Blutveränderung. Dazu kommt natürlich auch, daß die schwer erkrankten Tiere nur wenig Nahrung mehr aufzunehmen pflegten.

Versuch 8 ist ein weiterer Beleg hierfür.

Versuch 8.
Milchfütterung.

Datum	Körpergewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
11. X.	1760	49,5	27	—
12.		—	19	—
13.		30	19	—
14.		28	17	mäßig
15.	1600	—	17	"
16.		23	17	stark
17.		—	17	"
18.	1450	18	20	schwach
19.		18	—	0

Tier kachektisch, durch Entbluten getötet.

Die übrigen 8 Protokolle lassen, wie die hier wiedergegebenen, ganz übereinstimmend erkennen, daß es bei Milchdiät im allgemeinen schneller zur Lipämie kommt und daß diese auch höhere Grade erreicht, als bei der reinen Brotnahrung.

Die dritte Versuchsreihe wurde mit einer gemischten Diät ausgeführt, die aus Hafer und Dickrüben bestand. Im ganzen wurden 20 Tiere dieser Ernährung unterworfen, von denen ein Teil bereits zu den ersten Versuchsreihen gedient hatte und nach völliger Erholung erneut in den Versuch genommen wurde. Eine große Zahl der Versuche dieser Reihe scheiden für die Besprechung an dieser Stelle aus. Zum Teil dienten sie zu den später zu besprechenden Superpositionsversuchen mit einmaligen reichlichen Fettgaben, zum Teil wurden die Tiere mit Beginn der starken Lipämie zum Zwecke der chemischen Analyse der Fette entblutet.

Im ganzen ist es in dieser Versuchsreihe häufiger gelungen als in den Brotversuchen, starke Lipämien zu beobachten. Immerhin nicht so regelmäßig wie in der zweiten Versuchsreihe bei Milchdiät. In einem Versuche trat überhaupt kaum eine nennenswerte Lipämie ein. Es handelte sich dabei um ein kleines und schwaches Tier (Gewicht 1300 g). Im übrigen verweise ich auf die zwei hier wiedergegebenen Protokolle.

Versuch 20.

Hafer und Rübendiät.

Datum	Gewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
13. II.	2100	45	35	—
14.		37	17	—
15.		32	20	—
16.		27	22	schwach
17.		23	22	mäßig
18.		21	12	„
19.		22	19	milchig
20.	1750	23	—	„

Durch Entbluten getötet.

Einen anderen Typus charakterisiert das folgende Protokoll.

Versuch 9.
Hafer und Rübendiät.

Datum	Gewicht g	Hämoglobingehalt %	Menge des entnommenen Blutes ccm	Stärke der Lipämie
28. VII.	2510	72	22	—
29.		62	25	—
30.		—	30	—
31.		42	15	—
1. VIII.		—	—	—
2.		—	15	—
3.		36	15	Spur
4.	2226	—	5	schwach
5.		—	8	„
6.		—	—	0
7.		32	10	0
8.		—	10	0
9.		—	15	0
10.		—	15	0
11.		30	20	schwach
12.	1870	—	10	mäßig
13.		—	—	0
14.		—	15	0
15.		—	15	0
16.		30	—	0
17.	1650	—	—	0

Aus diesen Fütterungsversuchen, von denen ich der Raumersparnis wegen nur wenige Protokolle wiedergegeben habe, kann man den Schluß ziehen, daß die Ernährung für die Entwicklung der Lipämie von Bedeutung ist. Fettreiche Nahrung (Milch) begünstigt die Entwicklung der Lipämie anämischer Kaninchen. Allerdings kann diese auch bei fettärmerer Nahrung auftreten. Sie ist dann aber meist nicht so intensiv wie im ersteren Falle. Ferner scheint sie dann deutlich abhängig zu sein von dem Ernährungszustande des Tieres, der bei den milchernährten Tieren keine so sehr große Rolle spielt. Magere Tiere werden schwerer lipämisch als fette.

Der deutliche Einfluß der Diät bei langdauernden Versuchen ließ es wünschenswert erscheinen, den Einfluß einmaliger größerer Fettgaben auf die Entwicklung der Lipämie zu studieren. Es handelte sich also darum, festzustellen, in welcher Beziehung die Nahrungs- oder Mastlipämie zu der pathologischen Lipämie des anämischen Kaninchens steht. Dabei

stieß ich gleich von Anfang auf eine Tatsache, welche die Beurteilung zu erschweren schien, die mir später aber besonders wertvoll geworden ist: Kaninchen bekommen nämlich unter normalen Verhältnissen so gut wie niemals eine Mast- oder Nahrungslipämie. Diese Tatsache ist bereits von Neißer und Bräuning beobachtet worden. Ich kann sie durchaus bestätigen. Das Serum normaler Kaninchen bleibt auch nach abundanten Fettgaben klar, auch wenn man es zu den verschiedensten Zeiten nach Darreichung des Fettes untersucht. Ich gebe weiter unten eine tabellarische Zusammenstellung einiger meiner Versuche, die sich hierauf beziehen.

Gibt man zu große Fettmengen, etwa 15 bis 20 g, dann ruft man doch keine Lipämie hervor. Die Tiere erkranken dabei an heftigen Diarrhöen, wie in mehreren meiner Versuche.

Die von Neißer und Bräuning gefundene Tatsache ist ja verschiedenen Deutungen zugänglich und ist auch in der Tat verschieden gedeutet worden. Erstens wäre es möglich, daß man nicht während des richtigen Zeitpunktes untersuchte und daß die Fettresorption beim Kaninchen zeitlich anders vor sich geht als beim Menschen oder Fleischfresser, bei denen die zeitlichen Verhältnisse durch Neißers Beobachtungen klargestellt sind. Immerhin ist das nicht wahrscheinlich, da ich z. B. zu den allerverschiedensten Zeiten nach Darreichung des Fettes die Sera untersucht habe. Zweitens ist es denkbar, daß es beim normalen Kaninchen überhaupt nicht zu einer sichtbaren Lipämie kommt, sondern daß das Fett, etwa nach Analogie der Beobachtungen Mieschers bei Lachsen, in maskierter Form durch das Blut wandert, eine Vermutung, die z. B. auch Magnus-Levy geäußert hat. Und endlich ist es möglich, daß die Resorption des Fettes nicht wesentlich schneller verläuft als die Elimination aus dem Blute. Dann kann natürlich auch keine Lipämie zustande kommen. Daß die letztere Möglichkeit richtig ist, haben mir meine chemischen Untersuchungen des Blutserums von Kaninchen nach Fettfütterung gezeigt, die im 3. Teil dieser Arbeit aufgeführt sind und auf die ich verweisen möchte. Das Fett ist also im Serum der normalen Kaninchen nicht etwa, wie in dem der Miescherschen Lachse, in unsichtbarer Form enthalten, sondern es tritt in der Tat bei normalen Tieren keine nennenswerte Lipämie, weder eine sichtbare noch eine unsichtbare, ein; vermutlich eben deswegen, weil Resorption und Elimination des Fettes bei Kaninchen, die an fettarme Nahrung gewöhnt sind, sich die Wagschale halten. Ob es sich um eine besonders langsame Resorption oder besonders rapide Abgabe des Fettes aus dem Blute in die Gewebe handelt, kann ich nicht sicher-

sagen, vermute aber das erstere, da ich gelegentlich doch, selbst bei normalen Tieren, am Tage nach der Fettfütterung eine leichte Trübung des Serums beobachten konnte.

Zur Fettfütterung wählte ich nur Tiere, die mit fettarmer Nahrung ernährt worden waren, keine Kaninchen, die Milch erhalten hatten. Verfüttert wurde Palmin, das warm gemacht und den Tieren per Schlundsonde gegeben wurde. Olivenöl wurde auch mehrfach gegeben, doch kam ich davon bald zurück, da sich in der Literatur Angaben finden, daß Olivenöl auch beim Menschen öfters keine Lipämie hervorruft. Die Verfütterung des Palmins wurde sowohl bei normalen Tieren wie auch bei solchen vorgenommen, die sich im Zustande der Anämie durch Blutentziehung befanden und entweder keine oder auch bereits eine leichte Lipämie aufwiesen. Wenn die Palmingaben nur im zweiten Falle die Lipämie deutlich verstärkten oder zum Vorschein brachten, war gezeigt, daß das Fett bei anämischen Tieren die Blutbahn schwerer verläßt als bei normalen. Denn eine besonders schnelle Fettresorption bei anämischen Tieren anzunehmen, dazu liegt absolut keine Veranlassung vor.

Ich gebe tabellarisch einige der Resultate aus der sehr zahlreichen Versuchsreihe wieder. Ich war gezwungen, so viele Versuche anzustellen, da die Resultate, wie sich aus den Tabellen ergibt, recht wechselnde waren.

Normale Kaninchen.

Hafer und Rüben.

Versuch Nr.	Hämoglobin %	Palmingabe g	Untersucht nach Stunden	Lipämie
5	75	15	3	0
			7	0
1	65,5	30 (Kein Durchfall)	24	0
8	75	18	2	0
			4	Spur
			24	0
4	70	15	4	0
			7	0
			24	0

Nach 24 Stunden Versuch 4 mit demselben negativen Resultat wiederholt.

Es wurden noch eine größere Zahl von Versuchen an normalen Tieren ausgeführt; über das Resultat wird zum Teil auch im chemischen Teile berichtet. Alle Versuche ergaben übereinstimmend, daß es nie möglich ist, bei normalen Kaninchen durch reichliche Fettzufuhr eine nennenswerte Lipämie hervorzurufen. Meist tritt überhaupt nichts ein, in seltenen Fällen spurenweise Trübung des Serums, besonders bei der Untersuchung nach 4 Stunden, in die das Maximum der Resorption zu fallen scheint.

Ein anderes Bild ergeben die Fettfütterungsversuche bei anämischen Tieren. Dort ist von einer Konstanz der Erscheinungen keine Rede. Wohl aber kann man sicher sagen, daß in einem gewissen Stadium der Anämie Fettfütterung eine Lipämie hervorrufen kann. Ich gebe einen besonders instruktiven Doppelversuch an 2 Kaninchen vom gleichen Wurfe, den ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Zahn verdanke.

Versuch 1.

2 Kaninchen vom gleichen Wurf.

	Kaninchen V			Kaninchen VI		
Datum	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Lipämie	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Lipämie
23. III.	60	30	Spur	55	50	Spur
24.	39	—	Spur (Kontrolle)	31	5 g Palmin	gering
25.	40	—	nicht vermehrt	—	—	deutlich vermehrt
26. III.	44	30	—	35	30	—
27.	29	10 g Palmin	vermehrt (durch Blutenziehung)	22	—	vermehrt durch Blutentziehung (Kontrolle)
28.	29	—	stark vermehrt, etwa 1 : 6	—	—	keine Änderung
29.	—	—	stark vermindert	—	—	etwas vermindert
30. III.	32	10 g Palmin	ungeändert	32	—	ungeändert (Kontrolle)
31.	—	20 g Palmin	Zunahme, aber weniger als am 28. III.	—	—	geringe Abnahme
1. IV.	—	—	kaum verändert, kein Durchfall	—	20 g Palmin	geringe Zunahme, ganz schwerer Durchfall

Versuch 2.

Kaninchen Nr. 7.

Datum	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
23. III.	62	30	—	gering
24.	44	—	10 g Zucker	„
25.	43	—	7 g Zucker	kaum geändert
26.	48	30	—	—
27.	—	—	10 g Zucker	kaum geänd. trotz Aderlaß
28. 9h	32	—	10 g Palmin	kaum vermehrt
29. 5h	—	—	—	stark vermehrt
30.	—	—	—	beträchtlich vermindert
31.	—	—	—	„ „
1. IV. 12h	—	—	10 g Palmin	weiter vermindert
				geringe Zunahme
			Pause	
5. IV.	46	—	—	0
6. 6h	—	—	10 g Palmin	0
7.	—	—	—	keine Wirkung

Diesen sehr überzeugenden Beobachtungen reihen sich eine Anzahl positiver Versuche an, die ich bei Tieren gemacht habe, die bei Brot oder Hafer und Rübendiät anämisiert worden waren.

Versuch 2.

Brotfütterung.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
13. VIII.	2190	54,5	28	—	—
14.		36,0	20	—	—
15.		32,0	18	—	—
16.		28,5	15	—	—
17.		26,0	15	—	schwach
18.		21,0	15	—	mäßig
19.		21,0	20	—	stark
20.		21,0	18	—	„
21.	1930	15,0	20	—	„
22.		16,0	—	—	schwach
23.		18,0	—	—	„
24.		17,0	—	—	„
25.		19,0	—	—	„
26.		20,0	—	15 g Palmin	mäßig
27.		23,0	—	—	schwach
28.		27,0	—	—	0

Versuch 2.

Hafer- und Rübenfütterung.

Datum	Gewicht g	Hämo-globin %	Blut-entziehung ccm	Medikation	Lipämie
20. VI.	2320	68,0	20	—	—
21.		53,0	35	—	0
22.		33,5	18	—	0
23.		30,0	8	—	0
24.		22,0	5	—	schwach
25.	1980	23,0	—	10 g Palmin	—
				2. Std.	verstärkt
				7. „	„
26.		26,0	—	—	0
27.	1726	31,0	—	—	0
28.		30,0	—	—	0

Gestorben.

Versuch 15.

Hafer- und Rübendiät.

Datum	Gewicht g	Hämo-globin %	Blut-entziehung ccm	Medikation	Lipämie
4. IX.	2090	50,0	30	—	—
5.		30,0	20	—	—
6.		26,0	20	—	—
7.		24,5	15	—	schwach
8.		24,5	20	—	„
9.		23,0	10	—	stark
10.		23,0	15	—	„
11.		22,0	15	—	mäßig
12.	2120	22,0	15	—	„
13.		—	—	—	—
14.		23,0	14	—	Spur
15.		—	—	—	—
16.	2020	21,0	20	—	Spur
17.		23,0	18	—	schwach
18.		23,0	—	—	stark
19.		26,0	12	—	schwach
20.		24,5	—	18 g Palmin	Spur
				5. Std.	stark
21.		23,0	—	—	mäßig

Versuch 13.

Hafer, Rüben. (Tier war vorher im Milchversuch.)

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
26.	1400	35,0	—	—	0
27.		37,0	10	—	0
28.		36,0	12	—	0
29.		33,5	2	—	schwach
30.		26,0	12	—	stark
31.		26,0	7	—	„
1.		30,0	10	—	mäßig
2.		24,5	12	—	„
3.		32,0	10	—	schwach
4.		—	—	—	—
5.	1200	30,0	17	—	schwach
6.		30,0	17	—	„
7.		28,5	—	15 g Palmin	
				3. Std.	stark
				6. „	„
8.		30,0	—	—	„
9.		30,0	—	—	mäßig
10.		30,0	—	—	„
11.		32,0	—	—	„
12.		36,0	—	—	schwach
13.		36,0	—	—	„
14.	1080	36,0	—	—	„
15.		39,0	—	—	„
16.		39,0	—	—	Spur
17.	1120	38,0	—	20 g Palmin	0
				3. Std.	0
				6. „	0
18.		36,0	—	—	0
19.		39,0	23	—	0
20.		27,0	26	—	schwach
21.		16,0	13	—	stark

Diese Beobachtungsreihe von 7 Versuchen ist m. E. absolut beweisend, und zwar dafür, daß beim anämischen Tier im Gegensatze zum normalen einmalige Fettzufuhr Lipämie verursachen kann. Besondere Bedeutung möchte ich dem Doppelversuche an 2 Tieren gleichen Wurfes beilegen. Durch Palminzugaben konnte man mehrfach bald bei dem einen, bald bei dem anderen die Lipämie verstärken oder sogar hervorrufen. Hier fällt wohl jeder Einwand fort, etwa derart, daß das Fett zufällig gerade in einem Momente gegeben war, in dem die Lipämie auch wohl von selbst stärker geworden wäre. Ebensowenig hat das für die Mehrzahl der anderen positiven Versuche Geltung; denn

oftmals habe ich durch Palmin Lipämien noch in einem Stadium hervorrufen können, in dem Blutentnahmen nicht mehr stattfanden. Erfahrungsgemäß wird aber die Lipämie, sobald man mit den Venaesektionen aussetzt, nicht stärker, sondern nur schwächer.

Ich glaube daher, der Zusammenhang zwischen Fettzufuhr und Lipämie ist hiermit auch für jene Form pathologischer Lipämien einwandfrei gesichert. Allerdings möchte ich nicht verhehlen, daß diesen positiven Befunden auch beinahe ebensoviel negative gegenüberstehen, d. h. es gelang mir keineswegs in allen Fällen, durch Fettzufuhr beim anämischen Tiere die Lipämie zu verstärken. Oder die Resultate waren unsicher und nicht eindeutig. Besonders häufig fanden sich Fehlschläge bei mit Milch gefütterten Tieren, die ja an sich schon meistens sehr leicht Lipämie bekamen.

Ich gebe im folgenden einige meiner Versuchsprotokolle.

Versuch 14.

Anfangs gemischtes Futter, dann Milch.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
31. VIII.	1500	60,0	22	—	—
1. IX.		55,0	10	—	0
2.		33,5	10	—	0
3.		35,0	10	—	0
4.		35,0	18	—	0
5.		30,0	15	—	stark
6.	1400	30,0	—	—	„
Weiter mit der Milch gefüttert.					
7. IX.		26,0	—	—	stark
8.		26,0	—	—	mäßig
9.	1370	27,0	—	—	„
10.		26,0	—	—	„
11.		—	—	—	—
12.		30,0	—	—	kaum
13.		30,0	—	—	„
14.		32,0	—	—	0
15.	1250	32,0	—	15 g Palmin	0
				2. Std.	0
				5. „	0
16.		24,5	—	—	0
17.		23,0	10	—	stark
18.		23,0	10	—	„
19.		21,0	—	—	„

Durch Entbluten getötet.

Versuch 16.

Gemischte Kost.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
18. IX.	2500	47,0	25	—	—
19.		32,0	22	—	0
20.		33,5	20	—	0
21.		26,0	18	—	0
22.		—	—	—	—
23.		22,0	20	—	Spur
24.	2240	23,0	15	—	„
25.		22,0	—	15 g Palmin	„
26.		24,5	20	—	„
27.		23,0	15	—	schwach
28.		23,0	17	—	„
29.		—	—	—	—
30.		26,0	20	—	„
1. X.		22,0	15	—	mäßig

Versuch 10.

Hafer- und Rübendiät.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
22. VII.	1650	58,5	10	—	—
23.		54,5	10	—	0
24.		33,5	5	—	0
25.		27,0	—	15 g Palmin	—
				2. Std.	0
				4. „	0
26.		35,0	15	—	0
27.		27,0	15	—	schwach
28.		21,0	—	—	mäßig
29.		18,0	—	—	stark
30.		23,0	—	—	„
31.		30,0	—	—	0
1. VIII.		30,0	—	—	0
2.		28,0	—	—	0

Gestorben.

Diese hier aufgeführten Versuche, die ich noch vermehren könnte, zeigen, daß es auch beim anämischen Kaninchen nicht immer gelingt, durch reichliche Fettzufuhr eine Lipämie hervorzurufen. Offenbar sind die Bedingungen, die das Entstehen der Lipämie beherrschen, recht komplizierte. Lipämie wird auch beim anämischen Kaninchen nur dann eintreten, wenn jene Bedingungen, über die wir einstweilen noch nichts Näheres

Versuch 1.
Milchdiät.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
16. VIII.	1050	78,0	15	—	—
17.		66,5	15	—	0
18.		41,5	15	—	0
19.		—	—	—	—
20.		24,5	7	—	stark
21.		27,0	—	—	"
22.		27,5	—	—	"
23.		26,0	—	—	"
24.		26,0	—	—	mäßig
25.	1170	32,5	—	—	schwach
26.		31,0	—	10 g Palmin	"
				3. Std.	keine Beeinflussung
				5. "	
27.		31,0	—	—	—

Versuch 4.
Milchdiät.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Medikation	Lipämie
18. IX.	2250	50,0	20	—	—
19.		35,0	25	—	—
20.		28,5	16	—	—
21.		22,0	—	—	Spur
22.		—	—	—	schwach
23.		24,5	—	15 g Palmin	"
24.		19,5	—	—	"
25.		22,0	20	—	"
26.		21,0	18	—	mäßig
27.	2050	20,0	18	—	stark

Durch Entbluten getötet.

wissen, erfüllt sind, wie das in der ersten Versuchsreihe in schlagender Weise nachgewiesen wurde.

Auch durch Vergiftung mit Phenylhydrazin kann man mehr oder weniger intensive Lipämien hervorrufen, also ohne jeden Aderlaß. Ich gebe die Protokolle meiner 5 Versuche nicht ausführlich an und verweise auf die Analysen des Blutes dieser Tiere im chemischen Teile der Arbeit. Im ganzen beobachtete ich bei Giftanämien nicht so starke lipämische Blutveränderungen wie nach Anämien durch Aderlässe. Ich möchte noch hinzufügen, daß auch einige Fütterungsversuche mit **Traubenzucker bei anämischen Tieren ausgeführt wurden. Da sich nämlich** bei schwerer Lipämie häufig eine Leberverfettung findet und

die Leber der anämischen Tiere, wie mir Herr Prof. Morawitz mitteilte, meist glykogenarm bis glykogenfrei ist, war zu untersuchen, ob es gelingt, durch reichliche Zuckerzufuhr die Lipämie in ihrer Entstehung und in ihrem Verlaufe zu beeinflussen resp. zu vermindern. Die Versuche wurden bald abgebrochen. Denn es stellte sich heraus, daß Zufuhr von Traubenzucker die Lipämie jedenfalls nicht verhindern kann. Auch sonst war ein eindeutiger Einfluß nicht erkennbar. Ich gebe daher nur ein Versuchsprotokoll.

Kaninchen II.

Großes Tier, 2500 g.

Datum	Hämoglobin %	Blutentziehung ccm	Zucker g	Lipämie
6. III.	72	35	5	keine
7.	—	35	10	gering
8.	43	35	10	stärker
9.	42	30	10	schwer
10.	32	30	10	noch weiter vermehrt
11.	21	25	8	schwer
12.	18	10	—	schwer (leicht Durchfall; 2500 g)
13.	20	3	—	unvermindert
15.	28	—	—	deutlich

Eine kurze Zusammenfassung der Resultate dieser ganzen Versuchsreihe zeigt folgendes:

Durch Fettfütterung läßt sich bei normalen Kaninchen keine Lipämie hervorrufen. Nur ganz selten war das Serum spurenweise getrübt. Das Fehlen der Mastlipämie, das schon von Neißer und Bräuning festgestellt worden war, beruht darauf, daß das Fett aus dem Intestinaltrakt nicht schneller resorbiert wird als es die Blutbahn verläßt, nicht etwa auf Maskierung des Fettes.

Anämische Kaninchen bekommen meist bei einem Hämoglobingehalt zwischen 20 und 30% eine Lipämie.

Der Grad der Lipämie ist abhängig: 1. vom Ernährungszustande des Tieres, fette Tiere zeigen höhere Grade; 2. von der Ernährung.

Es läßt sich der sichere Nachweis erbringen, daß fettreiche Nahrung das Entstehen der Lipämie fördert, z. B. Milchnahrung. Aber die Lipämie tritt auch bei fettarmer Ernährung auf, dort meist unter den Zeichen starker Körpergewichtsabnahme.

Einmalige Fettgaben (Palmin) sind imstande, bei anämischen Tieren eine starke Lipämie hervorzurufen resp. eine schon be-

stehende zu verstärken. Die Wirkung ist nach 3, 7 Stunden sowie noch am nächsten Tage unverkennbar. Da das bei normalen Tieren nicht gelingt (s. oben), ist hiermit wohl der sichere Beweis dafür erbracht, daß das Nahrungsfett (und wahrscheinlich auch das Körperfett) bei dieser Art der pathologischen Lipämie das Blut schwerer und langsamer verläßt als unter normalen Verhältnissen.

Die Gründe für die Unfähigkeit des Fettes, das Blut zu verlassen, werden im letzten Teile der Arbeit besprochen werden.

2. Chemische Untersuchung der Fette im Serum lipämischer Kaninchen.

Über die Technik der hier ausgeführten Untersuchungen findet sich das Nötige im methodischen Teil.

Ich untersuchte zunächst das Blutserum normaler Kaninchen auf seinen Gehalt an Fettsäure, unverseifbarer Substanz und Cholesterin. Die folgende Tabelle unterrichtet hierüber.

Quantitative Analyse von Fett im normalen Blutserum.

Versuchsnummer	Fettsäure %	Unverseifbare Substanzen %	Cholesterin %
1	0,309	0,108	0,075
2	0,335	0,104	0,061
3	0,288	0,086	0,057
4	0,372	0,128	0,095
5	0,220	0,065	0,030
6	0,234	0,090	0,057

Einige Worte zu den Cholesterinwerten. Die von Autenrieth und Funk[1]) mitgeteilten Normalzahlen sind, obwohl sie an demselben Material gewonnen wurden wie meine, um das 5fache niedriger. Unzweifelhaft muß den Autoren ein Fehler bei der Berechnung untergelaufen sein. Denn meine Werte stimmen sehr gut mit dem von Wacker und Hueck[2]) jüngst für Kaninchenserum als Durchschnittszahl ermittelten Werte von 0,053 für Gesamtcholesterin im Serum überein. In meinen Versuchen wurden die Cholesterinester, die nach Wacker und Hueck beim Kaninchen etwas mehr als die Hälfte des Cholesterins betragen, nicht gesondert bestimmt. Bemerken möchte ich noch, daß

[1]) Autenrieth und Funk, l. c.

[2]) Wacker und Hueck, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74, 422.

nach den obenerwähnten Autoren bei der Gerinnung des Blutes ein Cholesterinverlust nicht eintritt. Die Fettsäurewerte entsprechen etwa den von Autenrieth mitgeteilten Zahlen.

Übrigens können die Cholesterinwerte in Abhängigkeit von der Ernährung beim normalen Tier nicht unerheblich schwanken, wie das Wacker und Hueck sowie Lehman[1]) gezeigt haben.

Es schien mir, im Anschluß an die früher besprochenen Fütterungsversuche mit Fett, sehr erwünscht, Blutserum von Tieren während der Fettverdauung chemisch zu untersuchen. Auf diese Versuche ist früher schon hingewiesen worden. Es handelt sich nämlich um die Frage: Warum bekommen normale Kaninchen nach Fettfütterung keine sichtbare Lipämie? Liegt das vielleicht daran, daß bei ihnen die Fette in maskierter Form im Blute kreisen? Die folgende Tabelle gibt darüber Auskunft: Die Tiere erhielten unmittelbar nach Entnahme von 20 ccm Normalblut 17,0 g Palmin mittels Schlundsonde. Nach 3 Stunden erfolgte die 2. Blutentnahme. Je 10 ccm des Serums kamen zur Analyse.

Fettgehalt des Blutserums normaler Kaninchen nach Palminfütterung.

Versuchs-Nr.	Palmin-fütterung	Fettsäure %	Unverseifbare Substanzen %	Cholesterin %
1	vor	0,245	0,062	0,0265
	nach	0,276	0,062	0,0320
2	vor	0,210	0,052	0,0203
	nach	0,228	0,042	0,0240
3	vor	0,242	0,040	0,0170
	nach	0,214	0,047	0,0180
4	vor	0,184	0,032	0,0170
	nach	0,182	0,033	0,0165

Es stellt sich heraus, daß von einer nennenswerten Veränderung des Fettgehaltes nicht die Rede ist. Die Werte stimmen fast im Bereiche der Fehler der Methodik miteinander überein. Vermehrungen des Fettes sind nicht häufiger als Verminderungen, d. h. also, das Fehlen der Mastlipämie beim Kaninchen ist wirklich der Ausdruck dafür, daß der Fettgehalt

[1]) Lehman, Journ. of Biolog. Chem. 16, Nr. 4, 1914.

des Blutes 3 Stunden nach der Fettaufnahme nicht vermehrt ist. Eine Fettmaskierung liegt nicht vor.

Gegen die Beweiskraft dieser Versuche wäre vielleicht einzuwenden, daß der Zeitpunkt der Blutentnahme nicht richtig gewählt ist und die Vermehrung des Fettes aus diesem Grunde vermißt wird. Zur Ergänzung dient daher die folgende Tabelle, die genau die gleiche Versuchsanordnung bei Tieren zeigt, die 5 Tage lang durch tägliche Blutentziehungen von 13 bis 20 ccm anämisiert worden waren. Die Palmingabe betrug wiederum 17 g. Unzweifelhaft ist hier eine Vermehrung des Fett- und Cholesteringehaltes, der ja an sich schon ziemlich hoch war, eingetreten. Nur in Versuch 2 differieren die Werte nur wenig, aber auch hier zugunsten der 2. Probe nach der Fettfütterung.

Mit diesen beiden Beobachtungsreihen ist, wie mir scheint, ein zwingender Beweis dafür erbracht, daß das resorbierte Nahrungsfett bei anämischen Tieren sich im Blute ansammelt, die Blutbahn schwerer verläßt. Das steht in sehr guter Übereinstimmung zu den früher erwähnten Fütterungsversuchen und bildet die notwendige chemische Ergänzung und Bestätigung der früher erwähnten morphologischen Befunde.

Fettbestimmung nach Palminfütterung im Serum anämisierter Kaninchen.

Versuchs-Nr.	Palmin-fütterung	Fettsäure %	Unverseifbare Substanzen %	Cholesterin %
1	vor	0,420	0,122	0,056
	nach	0,600	0,178	0,069
2	vor	0,654	0,141	0,054
	nach	0,658	0,148	0,064
3	vor	1,036	0,255	0,105
	nach	1,536	0,272	0,135
4	vor	0,502	0,094	0,050
	nach	0,652	0,160	0,065

Die folgenden Tabellen unterrichten über den Fett- und Lipoidgehalt des Blutes anämisierter Kaninchen bei verschiedener Fütterung.

Quantitative Analyse von Fett im lipämischen Blutserum.

Nummer des Versuchstieres	Datum	Lipämischer Grad	Fettsäure %	Unverseifbare Substanz %	Cholesterin %
M. I (Milchfütterung)	13., 14., 15. XI.	mäßig	0,5025	0,0950	0,064
	16., 17., 18.	milchig	2,1031	0,2221	0,175
	19.	schwach	0,7885	0,130	0,081
M. II (Milchfütterung)	15. XI.	mäßig	2,0616	0,1983	0,170
	16., 17., 18.	milchig	4,2363	0,6248	0,260
	19., 20., 21.	schwach	1,6529	0,1658	0,128
M. IV (Milchfütterung)	7., 8. XI.	schwach	0,6780	—	—
	9., 10.	mäßig	0,9066	—	—
	11.	schwach	0,4666	—	—
	12.	milchig	2,7384	—	—
	13.	ziemlich stark	0,6080	—	—
M. V (Milchfütterung)	14. XII.	Spur	0,4450	—	—
	16.	michig	2,2222	—	—
	22.	mäßig	1,8580	—	—
	23.	„	3,2600	—	—
	24.	milchig	1,3866	—	—
	25., 27.	„	5,5480	—	—
	28.	„	1,0960	—	—
	29.	„	3,7520	—	—
	30.	„	5,7108	—	—
G. C. (Gewöhnliche Fütterung)	3. XI.	normal	0,1880	0,075	0,045
	4., 5., 6.	Spur	0,1960	0,155	0,087
	7., 8.	mäßig	0,6140	0,190	0,095
	9., 10.	schwach	0,5933	0,152	0,067
	11.	ziemlich stark	1,2716	0,227	0,108
	12.	„ „	1,1345	0,188	0,120
	13.	mäßig	0,8920	0,132	0,090
B. C. (Brotfütterung)	16. XI.	normal	0,194	0,080	0,034
	17., 18.	„	0,313	—	—
	20., 21., 22.	schwach	0,690	0,123	0,076
	23.	Spur	0,577	0,108	0,060
	28.	mäßig	1,065	0,190	0,125

Serum	Hüblsche Jodzahl	Reichert-Meißlsche-Zahl	Köttstorsche Verseifungszahl	Säurezahl
Normal	43,59	13,7	238,7	114,2
	43,87	14,0	231,9	118,5
Lipämie	46,73 (milchig)	18,0 (milchig)	247,5 (milchig)	157,0 (mäßig)
	43,95 („)	12,0 (mäßig)	231,2 („)	174,7 (milchig)
		13,1 („)	230,8 (mäßig)	162,0 (mäßig)

Die letzte Tabelle enthält einen Versuch zur näheren Analyse der zirkulierenden Fettarten.

Die Tabellen zeigen folgendes: Die Menge des Fettes im Blutserum ist nicht so hoch wie in mehreren Beobachtungen bei der menschlichen Lipämie, aber doch nicht unerheblich. Der höchste von mir beobachtete Wert ist 5,7%. Die hohen Werte finden sich wiederum nur in den Milchversuchen, ein neuer Hinweis auf die Bedeutung der Fettzufuhr für die Entstehung der Lipämie.

Einiges muß noch über die Cholesterinvermehrung gesagt werden, da ihr ja von Klemperer u. a. eine große Bedeutung in der Pathogenese der Lipämie zugeschrieben wird. Auch in unseren Versuchen ist eine Vermehrung der absoluten Cholesterinmenge in allen Versuchen, die zu stärkerer Lipämie führen, unverkennbar. Die Steigerung beträgt etwa das 3 bis 5fache der Norm. Wenn man aber die relativen Fett- und Cholesterinzahlen miteinander vergleicht, so sieht man, daß die Dinge sich sehr erheblich zuungunsten des Cholesterins verschoben haben. Von einer Lipoidämie oder Cholesterämie ist hier keine Rede. Aber auch in den vielzitierten Versuchen von Klemperer und Umber ändert sich die Proportion Fett:Cholesterin nicht wesentlich. Wenn man das normale Verhältnis mit 4:1 ansetzt, so wird dieses in den meisten Beobachtungen von Klemperer gewahrt. In meinen Versuchen tritt aber eine sehr erhebliche Verschiebung ein. Im 1. Versuche ist das Verhältnis etwa wie 12:1. Im 2. Versuche, der einen ziemlich hohen Grad von Lipämie aufweist, gar wie 16:1.

Trotz der absoluten Cholesterinvermehrung ist also von einer Cholesterämie keine Rede.

Immerhin ist es auffallend, daß Lipämien so häufig, ja scheinbar fast immer, mit einer Vermehrung des Cholesterins einhergehen. Der Gedanke, daß ein Zusammenhang zwischen beiden Erscheinungen besteht, ist nicht von der Hand zu weisen. Auch Wacker und Hueck äußern sich in diesem Sinne. Was ist aber das Primäre? Nun, ich glaube sicher nicht die Cholesterämie. Denn wir kennen doch genug Zustände von Cholesterinvermehrung ohne Lipämie, z. B. die Gravidität, manche Infektionskrankheiten usw. Dagegen kennen wir bisher keine Lipämie ohne Cholesterinvermehrung. Die pathologischen Lipämien gehen, soviel sie untersucht sind, alle mit Cholesterinvermehrung einher, die allerdings sich in meinem

Falle in sehr bescheidenen Grenzen hält. Auch für die Mästungslipämie, die schnell vorübergeht, wird eine Cholesterinzunahme behauptet. Doch möchte ich darauf, da es sich ja um einen sehr schnell vorübergehenden Zustand handelt, keinen allzu großen Wert legen.

Diese Tatsachen legen doch, wie ich meine, den Gedanken sehr nahe, daß das Fett Cholesterin in der Blutbahn zurückhält, mag nun das Cholesterin mit der Nahrung zugeführt sein oder aus den Körperorganen mobilisiert werden. Diese Zurückhaltung des Cholesterins wäre dann eine Erscheinung, die einer einfachen physikalischen oder chemischen Erklärung leicht zugänglich ist. Die günstigen Lösungsbedingungen des Cholesterins in Fett resp. Öl sind wohl imstande, die sog. Lipoidämie zwanglos zu erklären, außerdem vielleicht die Esterbildung. Steht nur wenig Cholesterin zur Verfügung, resp. kommt wenig in die Blutbahn, dann hat man eine Lipämie mit Cholesterämie geringen Grades. Das ist z. B. in unseren Versuchen der Fall. Daß das Cholesterin keineswegs immer aus den Geweben des Organismus selbst stammen muß, geht zur Genüge aus der Tatsache der stärkeren Cholesterämie bei Milchtieren hervor.

Es mag hier bemerkt werden, daß Beumer und Bürger (l. c.) eine Beobachtung erhoben haben, die scheinbar gegen die Berechtigung der oben ausgeführten Hypothese spricht. In einem Falle von Diabetes konnten sie selbst nach Schwinden der diabetischen Lipämie immer noch Cholesterin in vermehrter Menge im Blute nachweisen. Indessen ist diese einstweilen noch vereinzelte Beobachtung verschiedenen Deutungsversuchen zugänglich und nicht durchaus im Sinne der primären Cholesterämie und des sekundären Charakters der Lipämie verwertbar. Daß echte Cholesterämien, deren Entstehung nach Bacmeister[1]) vielleicht auf einer Störung der regulierenden Tätigkeit der Leber beruht, keineswegs häufig mit Lipämie einhergehen, habe ich oben schon hervorgehoben.

Es soll nochmals ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß die Erklärung der Cholesterämie, die ich hier versucht habe, nur den Ausgangspunkt neuer Untersuchungen bilden soll. Diese sind bereits im Gange.

Endlich gebe ich noch eine Tabelle, die sich auf die Lipämie bei Kaninchen bezieht, die durch Injektion von salzsaurem Phenylhydrazin anämisiert worden waren. Die Tabelle läßt deutlich erkennen, daß die Verhältnisse bei Giftanämien ähnlich liegen, wie bei der posthämorrhagischen Anämie. Allerdings tritt die Lipämie hier nicht so

[1]) Bacmeister, diese Zeitschr. 26, 223, 1910.

schnell und so regelmäßig ein. Doch hängt das vielleicht auch mit der ziemlich geringen Nahrungsaufnahme der vergifteten Tiere zusammen. Vom salzsauren Phenylhydrazin wurden täglich 0,005 bis 0,01 g, langsam steigend, subcutan injiziert. Irgendwelche Abweichungen von der Lipämie bei Blutungsanämien sind aus der Tabelle nicht ersichtlich.

Fett- und Lipoidgehalt des Blutes bei phenylhydrazinvergifteten Kaninchen.

Versuchs-Nr.	Die gesamte Injektionsmenge des Phenylhydrazinhydrochloricum	Lipämie	Fettsäure	Unverseifbare Substanzen	Cholesterin
1	0,134 g in 12 Tagen	mäßig	3,194% (0,3194 g)	0,630% (0,0630 g)	0,33% (0,033 g)
2	0,055 g in 4 Tagen	mäßig	0,920% (0,0920 g)	0,196% (0,0196 g)	0,105% (0,0105 g)
3	0,163 g in 17 Tagen	schwach	0,676% (0,0676 g)	0,188% (0,0188 g)	0,093% (0,0093 g)
4	0,158 g in 16 Tagen	mäßig	0,968% (0,0968 g)	0,258% (0,0258 g)	0,125% (0,0125 g)
5	0,126 g in 17 Tagen	mäßig	0,735% (0,0735 g)	0,186% (0,0186 g)	0,145% (0,0145 g)

Es war schon früher erwähnt, daß man bei lipämischen Tieren öfters schon makroskopische Leberverfettung findet. Leider ist es mir nicht möglich gewesen, zu entscheiden, was die Leberverfettung zu bedeuten hat. Sie kann offenbar verschieden gedeutet werden: Entweder ist sie einfach eine Folge der Lipämie. Das Fett, das sich in der Blutbahn angesammelt hat, kann diese aus bestimmten Gründen nur schwer verlassen. Seine Aufnahme in das Unterhautfettgewebe ist vielleicht in stärkerem Maße erschwert als sein Eindringen in die Leber. So entsteht gewissermaßen passiv eine Fettleber. Diese Erklärung ist wenig befriedigend, schon deshalb nicht, weil man bei vielen Kaninchen während des Versuches einen starken Schwund des Unterhautfettgewebes bei gleichzeitiger Leberverfettung beobachten kann. Das scheint mir doch dafür zu sprechen, daß in unseren Fällen nicht allein ein erschwerter Fettaustritt aus der Blutbahn das Krankheitsbild beherrscht, sondern daß wohl auch eine vermehrte Fettwanderung aus den Depots im Unterhautgewebe in die Leber stattfindet.

Wie dem auch sein mag, es tritt eine Vermehrung des Fett- und Lipoidgehaltes der Leber ein, die im allgemeinen um so stärker ist, je stärker die Lipämie. Das Nähere ist aus der beigegebenen Tabelle zu ersehen. Die Zahlen sind auf feuchte Substanz bezogen.

Quantitative Analyse von Fett in Leberbrei.

Normale Leber.				Lipämische Leber.			
Nr. der Versuchstiere	Fettsäure %	Unverseifbare Substanzen %	Cholesterin %	Nr. der Versuchstiere	Fettsäure %	Unverseifbare Substanzen %	Cholesterin %
1	2,469	0,126	0,102	M. 1	4,078	0,332	0,226
2	2,814	0,380	0,190	M. 3	6,450	0,404	0,380
3	2,167	0,219	—	M. 4	3,032	0,540	0,240
4	2,576	0,392	0,150	M. 5	4,812	0,442	0,292
5	2,449			G. a	4,500	0,489	0,265
				G. 6	2,502	0,315	0,062
				G. 7	3,032	0,324	0,176

Unter den Momenten, die vielleicht für die Entstehung der Lipämie von Bedeutung sein können, spielt die Inanition eine gewisse Rolle. Das heben schon Boggs und Morris hervor. Es wäre auch zu erwähnen, daß der Fettgehalt des normalen Blutes im Hungerzustande nach Angabe der meisten Autoren ein wenig ansteigt. Allerdings wird das neuerdings wieder bestritten[1]). Bei den Kaninchen, die anämisch gemacht werden, liegt nun sicher eine Inanition hohen Grades und ganz bestimmter Art vor, nämlich starke Eiweißverluste, die nur unvollkommen wieder ersetzt werden können. Entweder geht das Eiweiß durch Aderlässe, oder, wie bei den Giftanämien, durch starken Blutzerfall verloren. Dazu kommt noch die sicherlich nicht unerhebliche Eiweißmenge, die für den Neuaufbau der Blutbestandteile geformter und nicht geformter Art aufgewendet werden muß. Für die Kachexie spricht auch der schon hervorgehobene geringe Glykogengehalt der Leber.

Vielleicht hängt also der vermehrte Fetttransport, der ja wahrscheinlich neben der Unfähigkeit des Fettes die Blutbahn zu verlassen, die Entstehung der Lipämie beherrscht, mit der Kachexie durch starke Eiweißverluste zusammen. Das erscheint um so eher diskutabel, als auch bei anderen Erkrankungen, die zur Kachexie führen, z. B. beim Diabetes nach Pankreasexstirpation und bei der Phlorizinvergiftung, Vermehrung des zirkulierenden Fettes beobachtet wurde. Seo[2]) bestimmte bei

[1]) Freudenberg, diese Zeitschr. 45, 484, 1912.
[2]) Seo, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 1.

Hunden nach partieller oder totaler Pankreasexstirpation Fett- und Lipoidgehalt des Blutes. Der Ätherextrakt war beim total pankreasexstirpierten Hunde deutlich vermehrt, ohne daß aber eine nennenswerte sichtbare Lipämie bestand. Neben dem Neutralfett war hauptsächlich die Lecithinfraktion vermehrt, weniger häufig das Cholesterin. Immerhin waren damals die Methoden zur Bestimmung des Cholesterins noch nicht so ausgebildet wie jetzt. Ferner fand Lattes[1]) eine gewisse Zunahme des Petrolätherextraktes des Blutes bei der Phlorizinvergiftung des Hundes. Die Lipämie bei diesen Zuständen, die keineswegs sehr hochgradig ist, geht ja, genau wie bei den anämischen Kaninchen, häufig mit Verfettung der Leber einher. Es erschien mir daher erwünscht, den Fett- und Lipoidgehalt des Blutes bei Kaninchen zu studieren, die ich mit Phlorizin vergiftet hatte.

Fettsäure- und Cholesteringehalt im Blutserum von Kaninchen bei Phlorizinvergiftung.

Versuchs-Nr.	Fettsäure	Unverseifbare Substanzen	Cholesterin
2	0,340% (0,0340 g)	0,074% (0,0074 g)	0,065%
3	0,423% (0,0423 g)	0,110% (0,0110 g)	0,082%
4	0,224% (0,0224 g)	0,059% (0,0059 g)	0,028%
5	0,324% (0,0324 g)	0,062% (0,0062 g)	0,040%
6	0,414% (0,0414 g)	0,096% (0,0096 g)	0,071%

Die Tiere erhielten nach Cremer und Ritter[2]) täglich 1,0 bis 3,0 g Phlorizin in 40 ccm 1,2%iger Natroncarbonatlösung subcutan injiziert. Die Zuckerausscheidung war sehr reichlich. Nach einigen Tagen wurde den Tieren Blut entnommen. Je 10 ccm Serum kamen zur Analyse.

Eine deutlich sichtbare Lipämie war in keinem der Versuche aufgetreten. Wie die Tabelle zeigt, sind die Fett- und Lipoidwerte zwar ein wenig gesteigert, aber keineswegs in besonders hohem Grade.

[1]) Lattes, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 66, 132.

[2]) Cremer und Ritter in Asher-Spiro, Ergebn. d. Physiol. XII, 1912.

Man sieht also, daß Kachexie und vermehrte Fettwanderung nicht immer mit einer stärkeren Lipämie einhergehen brauchen. Sie brauchen es dann nicht, wenn, wie bei der Phlorizinvergiftung, der andere Faktor fehlt, der das Entstehen der Lipämie beherrscht, nämlich die Unfähigkeit des Fettes, die Blutbahn zu verlassen.

Daß die Verhältnisse bei der Phlorizinvergiftung in der Tat so liegen, wird im folgenden Abschnitte gezeigt werden.

3. Lipaseuntersuchungen in Blutserum und Organextrakten.

Die neuen Forschungen von Rona und Michaelis eröffnen eine Möglichkeit, die Bedingungen, unter denen das Fett die Blutbahn verläßt, einer Analyse zu unterziehen. Ich erwähnte schon, daß man heute die Existenz der vielbezweifelten Lipase oder Esterase des Blutserums mit der exakten und eleganten Methode von Rona und Michaelis mit Sicherheit demonstrieren kann.

Die Methode scheint zum Studium der Lipämiefrage noch nicht verwertet zu sein. Dagegen existiert eine ziemlich große Versuchsreihe von J. Bauer[1]), die sich auf eine große Zahl verschiedener Krankheiten bezieht. Leider ist keine diabetische Lipämie darunter. Bauer findet besonders niedrige Konstantenwerte für die Serumlipase bei Carcinomen und Phthisen, die mit Kachexie einhergehen.

Ich hoffte, durch fortlaufende Lipaseuntersuchungen im Blutserum der Kaninchen einen Einblick in jenen rätselhaften Mechanismus zu erhalten, der dem Fett den Austritt aus der Blutbahn sperrt. Denn daß es sich bei unserer Lipämie darum handelt, glaube ich sicher bewiesen zu haben.

Es ist das derselbe Gedanke, den B. Fischer ausgesprochen und verfolgt hat. Indessen konnte man bei dem damaligen Stande der Methodik seinen Versuchen für den Nachweis einer verminderten Lipolyse einen beweisenden Wert nicht zuerkennen.

In meinen Versuchen mit der stalagmometrischen Methode, deren Protokolle ich ungekürzt wiedergeben möchte, kann ich zunächst, ebenso wie J. Bauer an menschliehem Material, die

[1]) J. Bauer, Wiener klin. Wochenschr. 1912, S. 1376.

Tatsache feststellen, daß die Normalwerte für die Lipase zwar bei ein und demselben Tiere recht konstant sind, bei verschiedenen Normaltieren aber ganz erheblich schwanken. Die Konstantenwerte liegen meist um 0,003, erheben sich aber bei einzelnen Tieren bis etwa auf das 8 fache dieser Zahl. Technische Fehler sind durch zahlreiche Kontrollen ausgeschlossen worden. Was diese so sehr schwankenden Normalwerte zu bedeuten haben, wie sie entstehen, ist kaum zu sagen. Mit der Ernährung hängen sie schwerlich zusammen, da sie im Bereiche der nur mit Milch ernährten Tiere sich auch häufig genug finden. Ein Normalwert ist also für Kaninchen nicht festzustellen. Es bleibt daher nur übrig, den Individualwert jedes Tieres während der ganzen Dauer der Lipämieperiode zu verfolgen. Dadurch gestalteten sich diese Versuche recht mühsam, da ich der Meinung war, daß nur eine größere Versuchsserie verwertbare Resultate liefern könnte. Die Lipasebestimmung geschah während der Anämisierungsperiode alle 2 Tage. Zu den Versuchen dienten zum Teil dieselben Tiere, deren Protokolle schon im ersten Teile der Arbeit erwähnt wurden. Neben dem Lipasegehalt findet sich im 2. Stabe der Tabelle der Grad der Lipämie, im 3. der Hämoglobingehalt verzeichnet. Es folgen zunächst die Tabellen der Anämisierungsversuche durch Aderlässe.

Lipaseuntersuchungen im Blutserum von Kaninchen, die durch Aderlässe anämisiert waren.

Versuch 1.

M. I. Rein mit Milch gefüttertes Kaninchen (Körperpewicht 1750 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 20 Min.	nach 40 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
11. XI.	Normal-Serum	49,5	117	114	113	111	105	100	17	
				0,00193	*0,00143*	*0,00186*	*0,00349*	*0,00441*		0,00262
13.	mäßig	28,5	117	116,5	116	116	117	113	4	
				0,00022	*0,00023*	*0,00015*	*0,00036*	*0,00048*		0,00028
15.	stark	24,5	115	112	109	109	108	107	8	
				0,00327	*0,00388*	*0,00358*	*0,00211*	*0,00190*		0,00295
17.	mäßig	19,5	116	112	111	111	107	105	11	
				0,00373	*0,00256*	*0,00171*	*0,00263*	*0,00254*		0,00263

Versuch 2.

M. II. Rein mit Milch gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 2000 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten							
			sofort	nach 20 Min.	nach 40 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
11. XI.	Normal-Serum	47	117	115	113	109	102	98	19	
				0,00093	*0,00143*	*0,00189*	*0,00465*	*0,00459*		0,00269
13.	kein	35	115,5	115	113	112,5	111,5	111	4,5	
				0,00023	*0,00109*	*0,00060*	*0,00096*	*0,00086*		0,00074
15.	mäßig	24,5	116	115	114	113	112	111	5	
				0,00046	*0,00058*	*0,00080*	*0,00083*	*0,00085*		0,00070
17.	stark	24	115	113	116	109	103	104	11	
				0,00195	*0,00308*	*0,00259*	*0,00355*	*0,00271*		0,00277
19.	stark	19	114	111	108	106	105	104	10	
				0,00295	*0,00441*	*0,00425*	*0,00313*	*0,00259*		0,00346
21.	schwach	14	115	112	110	109	106	104	11	
				0,00329	*0,00308*	*0,00259*	*0,00299*	*0,00271*		0,00297

Versuch 3.

M. III. Rein mit Milch gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 1520 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten							
			sofort	nach 20 Min.	nach 40 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
19. XI.	Normal-Serum	62,5	113	109	99	95	91	89	24	
				0,00587	*0,01204*	*0,01044*	*0,00870*	*0,00778*		0,00897
20.	kein	32	114	110	106	102	100	98	16	
				0,00515	*0,00638*	*0,00643*	*0,00501*	*0,00435*		0,00546
22.	schwach	32	113	112	107	104	103	102	11	
				0,00131	*0,00472*	*0,00476*	*0,00362*	*0,00309*		0,00352
24.	Spur	36	114	112	109	105	78	97	17	
				0,00255	*0,00353*	*0,00471*	*0,00580*	*0,00468*		0,00425
26.	schwach	30	114	112	110	109	103	101	13	
				0,00255	*0,00234*	*0,00275*	*0,00391*	*0,00352*		0,00301
28.	Spur	30	116	111	110	103	97	96	20	
				0,00512	*0,00331*	*0,06626*	*0,00644*	*0,00546*		0,00531
30.	schwach	21	116	114	112	107	99	98	18	
				0,00117	*0,00186*	*0,00395*	*0,00572*	*0,00455*		0,00345
1. XII.	„	20	116	113	111	110	100	99	17	
				0,00241	*0,00256*	*0,00221*	*0,00556*	*0,00427*		0,00320

Versuch 4.

M. IV. Rein mit Milch gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 1400 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
1. XII.	Normal-	56	114,5	112	107	105	101	98	16,5	
	Serum			*0,00278*	*0,00534*	*0,00477*	*0,00494*	*0,00439*		0,00444
3.	kein	35	114,5	113	112	111	109	108	6,5	
				0,00248	*0,00137*	*0,00123*	*0,00157*	*0,00150*		0,00168
5.	ziemlich	32	114,5	112	110	109	107	104	10,5	
	stark			*0,00278*	*0,00284*	*0,00243*	*0,00243*	*0,00263*		0,00262
7.	mäßig	32	114,5	112	110	107	103	101	13,5	
				0,00278	*0,00284*	*0,00364*	*0,00397*	*0,00357*		0,00330
9.	"	26	115	112	108	103	98	96	19	
				0,00327	*0,00452*	*0,00595*	*0,00585*	*0,00530*		0,00459
11.	schwach	23	114	112	109	107	105	103	11	
				0,00255	*0,00353*	*0,00356*	*0,00312*	*0,00293*		0,00311
13.	stark	19,5	115	114	111	110	108	105	10	
				0,00715	*0,00288*	*0,00257*	*0,00211*	*0,00247*		0,00203

Versuch 5.

M. V. Rein mit Milch gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 1620 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
13. XII.	Normal-	52	114	109	103	99	98	16	
	Serum			*0,00471*	*0,00586*	*0,00546*	*0,00436*		0,00509
14.	schwach	33,5	114	112	110	109	105	9	
				0,00161	*0,00182*	*0,00157*	*0,00235*		0,00183
16.	stark	37,5	113	110	107	104	102	11	
				0,00281	*0,00315*	*0,00295*	*0,00331*		0,00305
19.	schwach	32	116	112	108	107	100	16	
				0,00248	*0,00335*	*0,00371*	*0,00416*		0,00342
22.	ziemlich	30	114	113	111	108	101	13	
	stark			*0,00082*	*0,00131*	*0,00156*	*0,00351*		0,00132
24.	stark	30	113	111	109	106	102	11	
				0,00181	*0,00194*	*0,00256*	*0,00301*		0,00233
26.	"	27	115	114	112	110	107	8	
				0,00047	*0,00109*	*0,00137*	*0,00190*		0,00121
28.	"	27	116	114	108	105	101	15	
				0,00043	*0,00317*	*0,00329*	*0,00364*		0,00264
30.	"	25	113	111	109	106	104	9	
				0,01810	*0,00194*	*0,00256*	*0,00238*		0,00227

Versuch 6.

G. b. **Mit gewöhnlicher Kost gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 2150 g).**

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten						Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
			sofort	nach 20 Min.	nach 40 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.		
21. XI.	kein	66	116	103	93	92	91	90	26	
				0,01807	0,01868	0,01336	0,00924	0,00748		0,01151
23.	„	39	113	107	100	95	93	92	21	
				0,00945	0,01105	0,01457	0,00777	0,00426		0,00942
25.	schwach	33,5	112	111	110	107	100	99	13	
				0,00140	0,00142	0,00271	0,00471	0,00367		0,00268
27.	ziemlich	31	115	113	111	106	104	103	12	
	stark			0,00124	0,00197	0,00425	0,00340	0,00276		0,00232
29.	stark	31	115	113	109	107	100	99	16	
				0,00124	0,00389	0,00547	0,00545	0,00421		0,00425
1. XII.	ziemlich	30	115	114	111	109	107	104	11	
	stark			0,00071	0,00197	0,00271	0,00364	0,00254		0,00278
3.	schwach	24,5	114	111	107	104	98	96	18	
				0,00395	0,00534	0,00518	0,00580	0,00525		0,00510
5.	mäßig	30	113	111	109	103	98	97	16	
				0,00271	0,00241	0,00304	0,00553	0,00517		0,00389
7.	ziemlich	36	112	110	108	104	100	98	14	
	stark			0,00290	0,00340	0,00434	0,00473	0,00392		0,00306

Versuch 7.

G. c. **Mit gewöhnlicher Kost gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 2700 g).**

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten						Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
			sofort	nach 20 Min.	nach 40 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.		
2. XI.	Normal-	62,5	116	113	112	109	102	98	18	
	Serum			0,00241	0,00186	0,00241	0,00466	0,00455		0,00316
3.	Spur	52	115	114	112	112	110	109	6	
				0,00071	0,00015	0,00016	0,00137	0,00125		0,00071
5.	„	39	115	113	110	109	106	108	10	
				0,00196	0,00308	0,00259	0,00298	0,00247		0,00265
7.	ziemlich	30	112	111	109	108	107	106	6	
	stark			0,00140	0,00125	0,00208	0,00180	0,00170		0,00164
9.	mäßig	27	116	115	114	113	110	108	8	
				0,00046	0,00058	0,00080	0,00140	0,00166		0,00099
10.	stark	24,5	115	114	114	110	108	107	8	
				0,00071	0,00015	0,00205	0,00211	0,00190		0,00132
12.	„	24	114	113	112	111	109	107	7	
				0,00124	0,00127	0,00131	0,00157	0,00178		0,00143

Versuch 8.

B. a. Mit Brot gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 1860 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
14. XII.	Normal-Serum	54,5	116	112	107	102	100	16	
				0,00248	*0,00395*	*0,00466*	*0,00417*		0,00381
16.	kein	37,5	114	110	109	106	105	9	
				0,00364	*0,00238*	*0,00283*	*0,00235*		0,00280
17.	"	37	115	110	107	103	100	15	
				0,00411	*0,00380*	*0,00401*	*0,00326*		0,00379
19.	Spur	24,5	117	116	114	113	112	5	
				0,00030	*0,00054*	*0,00063*	*0,00697*		0,00054
20.	"	22	116	114	112	109	106	10	
				0,00078	*0,00124*	*0,00183*	*0,00232*		0,00154
22.	"	24,5	114	113	112	109	106	8	
				0,00826	*0,00085*	*0,00158*	*0,00212*		0,00136
23.	kein	23	116	115	114	110	109	7	
				0,00064	*0,00077*	*0,00147*	*0,00137*		0,00104

Versuch 9.

B. b. Mit Brot gefüttertes Kaninchen (Körpergewicht 2040 g).

Datum	Lipämischer Grad	Hämoglob.-Gehalt %	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 80 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Vermind. Zahl v. Tropfen	Durchschnitt d. Konst.-Werte
16. XII.	Normal-Serum	53	114	109	104	100	98	16	
				0,00471	*0,00517*	*0,00530*	*0,00436*		0,00488
17.	kein	47	114	112	106	101	99	15	
				0,00170	*0,00425*	*0,00467*	*0,00409*		0,00368
19.	"	28,5	114	113	108	104	100	14	
				0,00083	*0,00440*	*0,00345*	*0,00397*		0,00316
20.	schwach	23	118	114	112	109	105	13	
				0,00153	*0,00161*	*0,00208*	*0,00270*		0,00198
22.	"	23	114	113	112	110	109	5	
				0,00082	*0,00085*	*0,00121*	*0,00171*		0,00101
23.	"	21	117	116	115	114	111	6	
				0,00030	*0,00030*	*0,00040*	*0,00144*		0,00061
26.	mäßig	26	117	116	115	113	111	6	
				0,00030	*0,00030*	*0,00064*	*0,00144*		0,00067
27.	"	26	118	116	115	113	110	8	
				0,00074	*0,00058*	*0,00078*	*0,00129*		0,00084
28.	"	26	117	114	111	108	106	11	
				0,00170	*0,00185*	*0,00232*	*0,00239*		0,00206

Ein kurzer Überblick über die wesentlichsten Resultate der Tabellen läßt zunächst erkennen, daß der Lipasegehalt des Blutserums in allen Versuchen mit Beginn der Anämiesierung sofort sehr stark sinkt. Das Sinken ist in den einzelnen Versuchen sehr verschieden stark ausgeprägt. In den Versuchen 1 und 2 sinkt er nach zwei Aderlässen schon auf $^1/_4$ des Ausgangswertes, in Versuch 3 viel weniger. Individuelle Differenzen kommen also vor und diese sprechen auch entschieden dafür, daß das Heruntergehen der Lipasewerte nicht einfach in der Weise mit der Blutentnahme zusammenhängen, daß die Entziehung lipasehaltigen Blutes zu einem Ersatz durch lipasearme Gewebsflüssigkeit führt. Es müssen vielmehr kompliziertere Verhältnisse obwalten, wahrscheinlich Beeinflussungen der Organe oder Zellen, aus denen die Lipase stammt. Sonst wären weder die individuellen Differenzen erklärbar, noch die so enorm starken Ausschläge nach der Entziehung eines doch nur relativ kleinen Teiles des Blutes.

Im weiteren Verlaufe der Anämisierungsperiode steigen die Lipasewerte meist etwas an, halten sich aber fast durchweg auf einem viel niedrigeren Niveau, als vor Beginn des Versuches.

Besteht nun ein Zusammenhang zwischen den Lipasewerten und der Lipämie? Es ist bei dem großen Einfluß, den die Ernährung auf die Entwicklung der Lipämie hat, klar, daß man lediglich die Versuche mit gleichartiger Ernährung miteinander vergleichen kann.

In den zwei ersten Milchversuchen sinkt der Lipasegehalt sehr schnell. Die Lipämie tritt schnell auf und ist sehr intensiv.

In Versuch 3 ist die Lipämie zu keiner Zeit erheblich, auch der Lipasegehalt sinkt lange nicht in dem Maße, wie in den beiden ersten Versuchen. Bei Versuch 4 mit seinen im Verlaufe der Beobachtung recht stark wechselnden Graden der Lipämie ist ein ziemlich deutlicher Zusammenhang zwischen dem Grade der Lipämie und der Verminderung der Lipase erkennbar, und zwar derart, daß die Abnahme des Fermentes, wie auch in allen anderen Versuchen, der Lipämie zeitlich etwas vorausgeht. Am 3. Tage wird eine erhebliche Abnahme des Fermentes festgestellt, während noch keine Lipämie besteht. Am 5. Tage ist diese bereits ziemlich stark. In der Folgezeit erreicht der Lipasegehalt wieder ziemlich normale Werte. Die Lipämie ist stark vermindert, um erst gegen Ende dieses Versuches bei wieder gesunkenem Lipasegehalt stark zu werden. Ganz analog ist der Versuch 5, der auch die 2 Perioden erkennen läßt: Fermentgehalt und Lipämie bewegen sich umgekehrt

proportional miteinander. Änderungen des Lipasegehaltes gehen meist vor. Ein zweimaliger Wechsel der Erscheinungen ist in der Tabelle erkennbar.

Schwerer zu erkennen ist dieser Parallelismus in den 4 letzten Versuchen dieser Reihe. Besonders die beiden nur mit Brot gefütterten Kaninchen (Versuch 8 und 9) haben nur eine mäßige oder geringe Lipämie, trotz starken Sinkens der lypolytischen Kraft des Blutes. Die mit gemischer Nahrung ernährten Tiere (6 und 7) stehen etwa in der Mitte. Es zeigt sich also auch in dieser Versuchsreihe der bedeutsame Einfluß der Ernährung.

Man wird m. E. nie erwarten können, eine deutliche umgekehrte Proportionalität zwischen Lipase und Lipämie zu sehen, wenn man den anderen bestimmenden Faktor, die Fettzufuhr, unberücksichtigt läßt. Körperfett scheint den oft recht mageren Versuchstieren nur in geringerem Maße zu Gebote zu stehen.

Für besonders beweisend möchte ich in dieser Versuchsreihe die Milchversuche halten. Ich glaube, niemand, der unvoreingenommen an die Deutung der Versuche herantritt, wird sich dem Gedanken entziehen können, daß Lipolyse und Lipämie etwas miteinander zu tun haben. Dabei mag ausdrücklich bemerkt sein, daß die Abnahme der lipolytischen Kraft mit der Anwesenheit des Fettes im Blute gar nichts zu tun hat. Denn sie ist schon da, bevor überhaupt eine sichtbare Lipämie auftritt.

Die folgenden 3 Kurven veranschaulichen deutlich die Beziehungen von Lipämie, Lipasegehalt und Hämoglobin. Versuch 1 und 2 sind Milchversuche, Versuch 7 eine Lipämie bei Hafer-Rübendiät. Wenn nun das Zusammentreffen von Abnahme der lipolytischen Kraft und Lipämie wirklich in einem engeren Verhältnis steht, wenn die Lipämie von der verminderten Lipolyse mit abhängt, dann ist wohl zu erwarten, daß auch bei Anämien durch Gifte, bei Ausschaltung also jeder Blutentnahme, eine Abnahme der lipolytischen Kraft beobachtet werden muß, wenn sich eine Lipämie einstellt. Ich erwähnte schon, daß bei subchronischer Vergiftung von Kaninchen mit salzsaurem Phenylhydrazin ebenfalls meist eine Lipämie eintritt. Allerdings ist sie weniger intensiv wie die Lipämie nach Aderlässen. Wenn diese Lipämie auch mit Verminderung der Lipase einhergeht, hat man einen weiteren Hinweis darauf, daß die Verminderung der Lipase für die Entstehung der Lipämie bedeutsam ist. Die folgenden Versuchsprotokolle 1 bis 6 geben hierüber Auskunft.

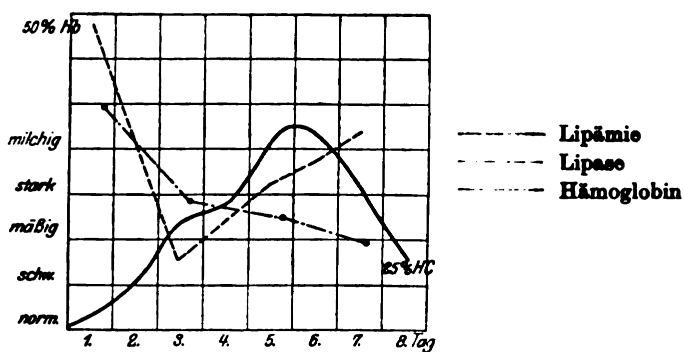


Fig. 2. Versuch 1.

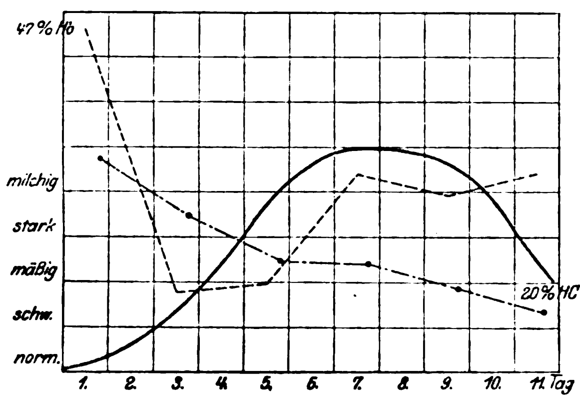


Fig. 3. Versuch 2.

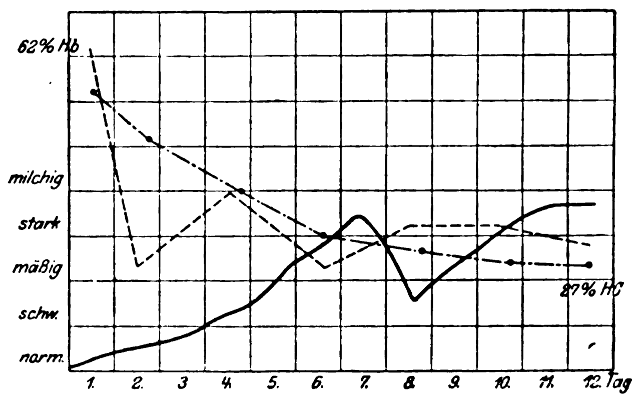


Fig. 4. Versuch 3.

Lipaseuntersuchungen im Blutserum von mit Phenylhydrazin anämisierten Kaninchen.

Versuch 1.

Datum	Körpergewicht g	Hb-Gehalt %	Lipämie	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantenwerte
29. I.	2650	62,5	—	114,0	99	94	91	88	
					0,01639	*0,01125*	*0,00880*	*0,00673*	0,01039
31.	2570	35,0	keine	113,0	104	98	89	87	
					0,00753	*0,00830*	*0,00944*	*0,00773*	0,00875
1. II.	—	35,0	schwach	113,0	109	102	96	93	
					0,00388	*0,00602*	*0,00675*	*0,00582*	0,00561
3.	—	30,0	„	110,0	107	104	101	97	
					0,00342	*0,00336*	*0,00348*	*0,00372*	0,00366
5.	2060	23,0	mäßig	112,0	107	98	94	94	
					0,00542	*0,00786*	*0,00645*	*0,00520*	0,00623
7.	—	23,0	„	112,5	108	97	92	91	
					0,00416	*0,00840*	*0,00807*	*0,00630*	0,00673
9.	1980	22,0	„	113,0	113	112	110	108	
					—	*0,00044*	*0,00093*	*0,00126*	0,00066

Versuch 2.

Datum	Körpergewicht g	Hb-Gehalt %	Lipämie	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantenwerte
29. I.	1920	57,0	—	114	95	92	88	84	
					0,02177	*0,01344*	*0,01168*	*0,01127*	0,01467
31.	—	40,0	keine	111	90	84	83	82	
					0,02653	*0,02122*	*0,01497*	*0,01310*	0,01893
1. II.	1770	38,5	„	112	101	92	91	89	
					0,01233	*0,01212*	*0,00841*	*0,00752*	0,01011
3.	—	37,0	schwach	112	103	94	91	89	
					0,01019	*0,01055*	*0,00830*	*0,00752*	0,00908
5.	—	32,0	keine	113	98	92	91	89	
					0,01660	*0,01255*	*0,00870*	*0,00774*	0,01139
7.	1500	26,0	schwach	112	108	99	92	91	
					0,00414	*0,00734*	*0,00807*	*0,00640*	0,00646

Versuch 3.

Datum	Körpergewicht g	Hb-Gehalt %	Lipämie	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantenwerte
29. I.	1100	60,0	—	113,5	95	91	88	85	
					0,02124	*0,01455*	*0,01151*	*0,01136*	0,01672
31.	—	39,0	keine	111,0	90	87	84	82	
					0,02653	*0,01716*	*0,01433*	*0,01060*	0,01720
1. II.	—	29,0	„	112,0	105	94	92	90	
					0,00770	*0,01400*	*0,00801*	*0,00605*	0,00874
3.	—	27,0	„	113,0	106	95	91	90	
					0,00768	*0,01047*	*0,00893*	*0,00708*	0,00854
5.	—	27,0	schwach	112,0	105	94	93	92	
					0,00771	*0,01400*	*0,00736*	*0,00605*	0,00877
7.	980	23,0	mäßig	112,0	109	106	102	98	
					0,00301	*0,00341*	*0,00392*	*0,00393*	0,00356

Versuch 4.

Datum	Körpergewicht g	Hb-Gehalt %	Lipämie	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantenwerte
26. I.	2070	45,0	keine	115	110	108	105	103	
					0,00411	*0,00317*	*0,00329*	*0,00305*	0,00340
28.	—	43,0	„	115	111	108	106	103	
					0,00311	*0,00317*	*0,00299*	*0,00305*	0,00308
2.	2050	40,0	Spur	114,5	113	111	109	107,5	
					0,00114	*0,00148*	*0,00167*	*0,00182*	0,00152
4.	—	31,0	„	115	112,5	109	107	106	
					0,00273	*0,00259*	*0,00253*	*0,00224*	0,00252
6.	—	30,0	mäßig	115	112	110	109	106	
					0,00218	*0,00206*	*0,00212*	*0,00224*	0,00215
8.	1920	28,0	„	113	112	108	106	101	
					0,00088	*0,00252*	*0,00255*	*0,00331*	0,00231
10.	—	28,5	„	113	112	108	106,5	103	
					0,00088	*0,00252*	*0,00238*	*0,00272*	0,00212
12.	—	27,0	„	116	115,5	107	103	101	
					0,00031	*0,00395*	*0,00417*	*0,00371*	0,00304
14.	1670	27,0	„	114	110	107	103	101	
					0,00363	*0,00356*	*0,00402*	*0,00351*	0,00368

Ein Überblick über den letzten Stab der Tabelle lehrt, daß es auch hier, sofern eine Lipämie eintritt, durchweg zur Verminderung der lipolytischen Kraft des Blutserums kommt, allerdings viel langsamer und niemals in dem Grade, wie bei Aderlaßanämien. Aber hier tritt auch die Lipämie viel langsamer auf und erreicht nicht so hohe Grade, wie in der ersten Serie. Besonders instruktiv ist der Versuch 2. Hier gelang es

Versuch 5.

Datum	Körper-gewicht g	Hb-Gehalt %	Lipämie	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantenwerte
26. I.	2770	62,0	—	114	108	97	94	92	
					0,00587	*0,00927*	*0,00750*	*0,00649*	0,00728
28.	—	51,0	keine	115	104	96	94	91	
					0,01083	*0,01077*	*0,00766*	*0,00685*	0,00902
2. II.	2770	49,0	„	114	110	106	100	97	
					0,00363	*0,00425*	*0,00530*	*0,00463*	0,00445
4.	2500	37,0	„	115	107	99	96	94	
					0,00760	*0,00510*	*0,00718*	*0,00574*	0,00641
6.	—	33,0	Spur	114	108	102	97	94	
					0,00586	*0,00643*	*0,00618*	*0,00563*	0,00602
8.	2320	31,0	„	114	107	101	96	94	
					0,00712	*0,00704*	*0,00702*	*0,00563*	0,00670
10.	—	28,0	schwach	112	109	105	100	97	
					0,00306	*0,00385*	*0,00473*	*0,00421*	0,00396
12.	1780	23,0	mäßig	116	107	101	96	94	
					0,00791	*0,00743*	*0,00727*	*0,00582*	0,00710

Versuch 6.

Datum	Körper-gewicht g	Hb-Gehalt %	Lipämie	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantenwerte
26. I.	1720	55,0	—	114	108	102	97	93	
					0,00587	*0,00927*	*0,00606*	*0,00682*	0,00682
28.	—	49,0	keine	115	111	107	103	99	
					0,00311	*0,00381*	*0,00407*	*0,00421*	0,00379
2. II.	—	40,0	Spur	113	110,5	106	100	97	
					0,00240	*0,00550*	*0,00502*	*0,00443*	0,00433
4.	—	38,0	„	112	108	101	96	95	
					0,00416	*0,00619*	*0,00644*	*0,00501*	0,00545
6.	—	32,0	„	114	105	101	96	94	
					0,00940	*0,00704*	*0,00702*	*0,00563*	0,00677
8.	1700	31,0	schwach	113	110	107	99	95	
					0,00240	*0,00315*	*0,00518*	*0,00443*	0,00404
10.	—	26,0	„	112	109	106,5	103	98	
					0,00300	*0,00340*	*0,00323*	*0,00393*	0,00349
12.	—	22,0	„	115	107	101	96	94	
					0,00760	*0,00561*	*0,00718*	*0,00574*	0,00653
14.	1680	21,0	„	113	107	102	99	96	
					0,00630	*0,00602*	*0,00516*	*0,00506*	0,00563

überhaupt nicht, eine nennenswerte Lipämie zu erhalten, obwohl das Tier im Laufe des kurzen Versuchs sehr stark abmagerte und fettarm wurde. Die lipolytische Kraft des Blutes ging dementsprechend auch kaum nennenswert herunter. In Versuch 1 und 3, wo stärkere Lipämien auftraten, sank auch

die Lipase. Die anderen Versuche zeigen ebenfalls eine erhebliche Abnahme der lipolytischen Kraft des Blutserums.

Hiermit ist wohl sicher erwiesen, daß die Abnahme der Lipolyse nicht nur von den Aderlässen abhängig ist. Denn auch bei Giftanämien mit Lipämie wurde dieselbe Erscheinung, allerdings in geringerem Grade, beobachtet.

Daß es sich hier auch nicht einfach um eine Kachexiereaktion handelt, lehren die Protokolle der Phlorizinversuche, die hier wiedergegeben werden mögen.

Bei Phlorizintieren fand ich nur eine mäßige Vermehrung des Fettes im Blute, ohne eigentliche Lipämie. Wenn man hier eine starke und konstante Verminderung der Lipolyse des Blutserums findet, wird man Zweifel an dem ätiologischen Zusammenhange der Erscheinungen, die oben beschrieben werden, äußern dürfen.

Lipaseuntersuchungen im Blutserum von mit Phlorizin injizierten Kaninchen.

Versuch 1.

Datum	Körpergewicht — Hb-Gehalt	Phlorizininjektion	Harnmenge — Zuckerproz.	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantwerte
17. III.	2160 g	—	—	113,5	94	90	87	83	—
	57,0%	—	—	—	*0,02219*	*0,01275*	*0,01221*	*0,01222*	0,01484
18.	—	—	160 ccm	113	97	93	91	89	—
	58,0%	1,5 g	4,2%	—	*0,01771*	*0,01165*	*0,00870*	*0,00744*	0,01149
19.	—	—	110 ccm	114	103	95	92,5	91	—
	—	1,0 g	—	—	*0,01171*	*0,01088*	*0,00804*	*0,00673*	0,00934
20.	2010 g	—	110 ccm	113	104	96	93	92	—
	58,0%	1,6 g	2,5%	—	*0,00955*	*0,01012*	*0,00754*	*0,00627*	0,00836
31.	—	—	110 ccm	113,5	108	96	93,5	92	—
	47,0%	2,0 g	0,9%	—	*0,00554*	*0,01391*	*0,00766*	*0,00640*	0,00833

Versuch 2.

Datum	Körpergewicht — Hb-Gehalt	Phlorizininjektion	Harnmenge — Zuckerproz.	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantwerte
17. III.	1976 g	—	—	114	104	96	93	92	
	40,0%	—	—	—	*0,01038*	*0,01056*	*0,00804*	*0,00648*	0,00885
18.	—	—	130 ccm	113	108	101	94	93	
	—	1,5 g	—	—	*0,00504*	*0,00663*	*0,00723*	*0,00582*	0,00693
19.	—	—	100 ccm	114,5	109	102	96	94	
	—	1,0 g	2,8%	—	*0,00487*	*0,00651*	*0,00707*	*0,00566*	0,00603
20.	1976 g	—	70 ccm	113	109	105	102	97	
	38,0%	1,0 g	3,6%	—	*0,00388*	*0,00424*	*0,00402*	*0,00443*	0,00414

Versuch 3.

Datum	Körpergewicht — Hb-Gehalt	Phlorizininjektion	Harnmenge — Zuckerproz.	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantwerte
17. III.	2000 g	—	—	114	99	94	93	91	
	56,0 %	—	—	—	*0,01639*	*0,01128*	*0,00804*	*0,00673*	0,01061
18.	—	—	130 ccm	113	99	93	92	91	
	52,0 %	1,5 g	3,4 %	—	*0,01220*	*0,01165*	*0,00948*	*0,00653*	0,00747
19.	—	—	150 ccm	114	106	96	94	92,5	
	50,0 %	1,0 g	—	—	*0,00851*	*0,01053*	*0,00750*	*0,00625*	0,00818
20.	—	—	200 ccm	113	106	98	94	92	
	50,0 %	1,0 g	1,5 %	—	*0,00768*	*0,00830*	*0,00723*	*0,00628*	0,00737
21.	1900 g	—	170 ccm	116	109	102	97	92,5	
	40,0 %	2,0 g	5,3 %	—	*0,00471*	*0,00643*	*0,00617*	*0,00603*	0,00633

Versuch 4.

Datum	Körpergewicht — Hb-Gehalt	Phlorizininjektion	Harnmenge — Zuckerproz.	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantwerte
26. III.	2240 g	—	—	114	102,5	94	92	90	
	60,0 %	—	—	—	*0,01248*	*0,01124*	*0,00867*	*0,00729*	0,00991
27.	—	—	110 ccm	114	102,5	93	92	91	
	60,0 %	2,0 g	7,4 %	—	*0,01248*	*0,01206*	*0,00864*	*0,00693*	0,00998
28.	—	—	140 ccm	115	106	96	93	92	
	57,0 %	3,0 g	4,1 %	—	*0,00898*	*0,01077*	*0,00820*	*0,00660*	0,00861

Versuch 5.

Datum	Körpergewicht — Hb-Gehalt	Phlorizininjektion	Harnmenge — Zuckerproz.	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten: sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantwerte
26. III.	1800 g	—	—	114	108	104	100	95	
	55,0 %	—	—	—	*0,00586*	*0,00518*	*0,00838*	*0,00544*	0,00621
27.	—	—	120 ccm	118	110	108	106	104	
	56,0 %	3,6 g	5,1 %	—	*0,00516*	*0,00369*	*0,00334*	*0,00297*	0,00379

Versuch 6.

Datum	Körpergewicht — Hb-Gehalt	Phlorizininjektion	Harnmenge — Zuckerproz.	Tropfenzahl und Geschwindigkeitskonstanten					
				sofort	nach 30 Min.	nach 60 Min.	nach 90 Min.	nach 120 Min.	Durchschnitt der Konstantwerte
26. III.	2260 g	—	—	114	108	101	94	92,5	
	63,0 %	—	—	—	*0,00586*	*0,00704*	*0,00750*	*0,00625*	0,00621
27.	—	—	120 ccm	114	108	101,5	97	93	
	60,0 %	2,0 g	9,6 %	—	*0,00586*	*0,00704*	*0,00619*	*0,00603*	0,00628
28.	2220 g	—	75 ccm	118	108,5	104	101	95	
	53,0 %	3,0 g	10,0 %	—	*0,00669*	*0,00590*	*0,00520*	*0,00582*	0,00590

Eine gewisse Abnahme der lipolytischen Kraft ist in fast allen Phlorizinversuchen zu erkennen. Sie ist aber quantitativ sehr geringfügig, auch recht inkonstant, und in manchen Versuchen, z. B. Versuch 4 und 6, kaum über den Fehlerbereich der Methodik hinausgehend. Nirgends zeigen sich jene enormen Schwankungen, denen man bei den anämischen Kaninchen begegnet. Es kann hieraus gefolgert werden: Die Phlorizinvergiftung, die, wenigstens in meinen Versuchen, zu keiner erheblichen Lipämie führte, läßt auch die Abnahme des lipolytischen Fermentes im Blute fast ganz vermissen. Hierin liegt wohl ein weiterer Hinweis auf die Bedeutung der Serumlipase für die Entstehung der Lipämie.

Der schlagendste Beweis wird aber wohl erst geliefert werden können, wenn man mit der Methode von Rona-Michaelis einen Diabetiker mit Lipämie untersucht, möglichst in verschiedenen Stadien seiner Erkrankung. Findet man dort dieselbe Erscheinung, dann ist, wie mir scheint, der Beweis dafür fast sicher erbracht, daß die Serumlipase, deren Existenz so vielfach angezweifelt wurde, für den schlechten Durchtritt des Fettes aus der Blutbahn verantwortlich zu machen ist.

Es ist klar, daß die Serumlipase von irgendwelchen Zellen oder Organen herstammen muß. In erster Linie ist wohl an das Pankreas zu denken, obwohl lipolytische Wirkungen von verschiedenen Autoren[1]) auch in den verschiedensten anderen Organen beobachtet werden. Meine Versuche, durch vergleichende Untersuchungen verschiedener Organe normaler und lipämischer Tiere die Quelle der Serumlipase zu finden, haben ein eindeutiges Resultat nicht ergeben. Untersucht wurde: Leber, Pankreas, Knochenmark, Milz. Irgendwelche konstante Differenzen zwischen lipämischen Tieren konnte ich nicht auffinden. Ich verzichte daher auf eine Wiedergabe der Protokolle.

---

[1]) Z. B. Berczeller, Freudenberg, Rona a. a. O. — Vgl. ferner Bergel, Münch. med. Wochenschr. 1910, S. 1688.

IV. Zusammenfassung.

An einem Falle pathologischer Lipämie, nämlich der Lipämie der anämisch gemachten Kaninchen (Boggs und Morris), wurde der Versuch gemacht, die Bedingungen der Lipämie in einer großen Zahl von Versuchen zu analysieren. Es ist recht wahrscheinlich, daß manche pathogenetischen Momente auch für andere pathologische Lipämien Geltung haben. Hier hat man eine Form der Lipämie vor sich, die man beliebig hervorrufen kann.

Folgende Befunde wurden erhoben: Normale Kaninchen bekommen selbst nach Verfütterung großer Fettmengen keine oder nur eine ganz schwach angedeutete Nahrungs- oder Mastlipämie. Es ließ sich der Nachweis erbringen, daß das Fehlen der Mastlipämie bei normalen Kaninchen dadurch zu erklären ist, daß die Fettresorption aus dem Intestinaltrakt nicht wesentlich schneller vor sich geht, als die Elimination des Fettes aus der Blutbahn. Das Fett wird, wie die chemische Untersuchung zeigt, nicht etwa in maskierter, unsichtbarer Form resorbiert.

Ganz anders verhalten sich anämische Kaninchen, bei denen eine gewisse Prädisposition zur Entwicklung einer Lipämie besteht. Erstens läßt sich das Auftreten der Lipämie durch eine fettreiche Nahrung (Milch) sehr wesentlich befördern. Die Lipämie ist bei den Milchtieren besonders intensiv. Zweitens kann man durch Fettzulagen (Palmin) bei fettarmer Nahrung direkt eine Lipämie hervorrufen, im Gegensatze zu normalen Tieren. Besonders beweisend sind Doppelversuche an Tieren gleichen Wurfes (S. 411). Die Lipämie nach einmaliger Fettgabe tritt meist 3 Stunden nach Verfütterung auf und scheint erst nach 12 Stunden ihre Höhe zu erreichen. Am nächsten Tage ist sie noch sehr stark und klingt dann langsam ab.

Mit diesen Versuchen an normalen und anämischen Tieren ist folgender Satz mit Sicherheit erwiesen: Der eine Faktor, der das Auftreten einer Lipämie begünstigt, ist in einer Störung zu suchen, die das Fett im Blute festhält. Es ist in der Blutbahn gefangen und kann sie nur langsam verlassen.

Diese Störung scheint sowohl Nahrungsfett als Depotfett zu betreffen; denn auch bei fettarmer Ernährung bekommen viele Kaninchen während der Anämisierung eine Lipämie.

Gleichzeitig schwindet das Unterhautfettgewebe. Hier handelt es sich wohl vorwiegend um endogenes Fett. Die Lipämien bei fettarmer Nahrung sind quantitativ geringer, als die bei fettreicher Nahrung.

Woher kommt es, daß das Fett in der Blutbahn gefangen ist? Meine Untersuchungen mit der stalagmometrischen Methode von Rona und Michaelis ergeben bei Lipämie immer eine erhebliche Abnahme der Lipase oder Esterase des Blutserums. Das trifft sowohl für die Anämie nach Aderlässen, wie auch für die toxische Anämie zu. Bei anderen Kachexien, die nicht mit nennenswerter Lipämie einhergehen (Phlorhizin) ist die Verminderung der Lipolyse nur unbedeutend.

Meine Versuchsprotokolle machen es zum mindesten sehr wahrscheinlich, daß die Abnahme der Serumlipase wenigstens einer der Faktoren, wenn nicht der ausschlaggebende Faktor für das Unvermögen des Blutes ist, sich des Fettes zu entledigen. Die Abnahme der Lipase geht der Lipämie meist zeitlich voraus. Für eine kolloidale Bindung des Fettes im Blutserum bei Lipämie ergaben sich mir keine Anhaltspunkte.

Die chemische Analyse der Fette bei Lipämie ließ in meinen Fällen, bei denen der Fettgehalt des Serums bis über 5 $^0/_0$ betragen hatte, regelmäßig auch eine Vermehrung des Gesamtcholesterins erkennen. Das Cholesterin war zwar absolut sehr erheblich, nie aber in demselben Maße wie das Neutralfett vermehrt. Es ist sehr wahrscheinlich, daß wir in der Cholesterinvermehrung etwas Sekundäres, eine Folge der Lipämie, vor uns haben. Eine Erklärung für die Vermehrung des Cholesterins könnte in der leichten Löslichkeit dieser Substanz in Fett gegeben werden, wahrscheinlich auch in der Esterbildung. Daß das Fett in der Tat Lipoide, speziell Cholesterin, in der Blutbahn zurückhalten kann, geht daraus hervor, daß es keinen Fall von länger dauernder Lipämie gibt, bei dem keine Cholesterämie bestanden hätte. Dagegen gibt es wohl Cholesterämien ohne erheblichere Lipämie. Weitere Untersuchungen über die Beziehungen des Cholesterins zum Fett im Blutserum werden über diese Fragen Aufschluß geben.

Zur Entstehung einer Lipämie gehört also zweierlei, wie hier gezeigt wurde: Erstens ein Angebot von Fett. Dieses kann endogenen (Fettwanderung) oder exogenen (Nahrung) Ur-

sprungs sein. Meine Untersuchungen zeigen die hohe, vielfach vernachlässigte Bedeutung des letzteren Momentes, dem nur von Magnus-Levy genügend Bedeutung beigemessen worden ist.

Zu einer länger dauernden Lipämie mit den Zügen der stabilen pathologischen Lipämie (im Gegensatze zur Mastlipämie) wird es aber nur kommen, wenn der Austritt des Fettes aus der Blutbahn gehemmt ist. Und dieses ist das zweite, viel wichtigere Moment für die Entwicklung einer Lipämie. Daß die Aufnahme von Nahrungsfett durch die Gewebe beim lipämischen Tiere in der Tat behindert ist und sich langsam vollzieht, haben meine Untersuchungen sicher gezeigt. Die Tatsache, daß diese Erscheinung mit einer Abnahme der Esterase des Blutserums (Rona-Michaelis) regelmäßig einhergeht, spricht für die ausschlaggebende Bedeutung der Lipolyse bei der „Blockierung der Fette“ im Blut.

Für das Verständnis der Lipämie überhaupt wie auch für das Studium der menschlichen Lipämien sind, wie ich hoffe, hier einige feste Grundlagen gewonnen.

Zur Frage des Gehalts an Phosphatiden bei Rana temporaria unter dem Einfluß von äußeren Einwirkungen und Vergiftungen.

I. Mitteilung.

Von

D. M. Lawrow.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Kaiserlichen Universität in Jurjew [Dorpat]).

(Eingegangen am 9. April 1914.)

Als wir unsere Versuche mit Rana temporaria anstellten, die das Ziel hatten, den Einfluß der aus dem Eigelb erhaltenen Lecithine auf die Wirkung von Medikamenten zu studieren, fanden wir, daß dieser Einfluß mit dem Allgemeinzustand der Tiere in Zusammenhang stand. So erwies es sich bei den Versuchen mit Ricin, daß das Überwintern der Frösche, das mit einem Hungerzustand verbunden ist, augensichtlich den Einfluß der Lipoide auf die Ricinvergiftung verändert. Im Beginn des Überwinterns treffen wir noch therapeutische Lecithin-Gaben an; bei Fröschen jedoch, die mehr oder weniger lange überwintert hatten, war die therapeutische Einwirkung der erwähnten Lipoide schwach ausgeprägt[1]).

Nachdem die Wirkung der Lecithine (aus Eigelb hergestellt) bei Vergiftung mit verschiedenen Giften (Strychnin, Curare, Äthylalkohol, Chloralhydrat, Phosphor, Phenol, Sublimat, Resorcin, Agrostemmasaponin, Campher, Cantharidin, Ricin — d. h. einer Reihe von Giften, die ihrer Pharmakodynamik nach zu verschiedenen Gruppen gehören) durchgeprüft war, habe ich darauf hingewiesen, daß die Wirkung in wesentlichem Zusammenhange ist mit der Größe der Gabe, in der

---

[1]) Diese Zeitschr. 54, 16 bis 26, 1913.

die genannten Lipoide einverleibt werden. Auf Grund dieser Versuche haben wir die Annahme ausgesprochen, daß die Lecithinwirkung, die im Organismus der Tiere bei Vergiftungen entfaltet wird, im wesentlichen von der ihnen als Lipoiden zukommenden Eigenschaft, die Verteilung des eingeführten Giftes in den Geweben und Organen anzugeben, abhängig ist.

Als ich auf die Tatsache stieß, daß die Lecithinbeeinflussung der Ricinvergiftung bei frischen Fröschen, die noch nicht in Versuchen gestanden hatten und noch nicht überwintert hatten, sich anders gestaltete, als bei solchen Fröschen, die schon längere Zeit überwintert hatten, hielt ich es für nötig, den Gesamtgehalt an Phosphatiden bei Fröschen etwas ausführlicher zu untersuchen. In der uns zugänglichen Literatur haben wir quantitative Bestimmungen der Phosphatide bei Rana temporaria in der Norm und im Hungerzustande nicht gefunden.

Es ist zu bemerken, daß einige Arbeiten, jedoch wenige an Zahl, vorhanden sind, die sich mit den Veränderungen befassen, die im Froschorganismus unter dem Einfluß des Hungerns vor sich gehen. So liefert J. Gaule[1]) ein sehr interessantes Material bezüglich der Gewichtsveränderungen der Leber, der Gesamtmasse der Skelettmuskulatur, des Fettes, der Milz und der Geschlechtsorgane, die bei Rana esculenta zu beobachten sind im Verlaufe des Jahres, wobei auch die Wintermonate in Betracht gezogen sind.

K. Viktorow[2]) hat die Veränderungen der chemischen Zusammensetzung des Fettkörpers bei Fröschen während des Winterschlafs untersucht. Er fand, daß der Eiweißgehalt und besonders der Fettgehalt (der absolute Gehalt) in diesem Organ im Laufe des Winters bedeutend sinkt. W. v. Moraczewski[3]) hat den Einfluß des Hungerns auf die Frösche noch genauer geklärt. Seine Versuche wurden mit zwei Serien von Fröschen angestellt: 1. einfach hungernde, die als Kontrolltiere dienten, und 2. anämische hungernde; letztere waren vorher entblutet und mit physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen. Der Hungerzustand währte bei der Mehrzahl der Versuche 2 bis 4 Monate. Unter anderem stellte es sich heraus, daß während des

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 87, 473 bis 537, 1901.
[2]) Ibidem 125, 230 bis 236, 1908.
[3]) Arch. f. Physiol. 1900, 124 bis 144.

Hungerns der Trockenrückstand, die stickstoffhaltigen Substanzen und der Phospor, auf das feuchte Tier berechnet, abnehmen. Der Autor bestimmte bei den hungernden Fröschen noch den Gehalt an Chlor, Natrium, Kalium und Calcium.

Da jegliche Angaben bezüglich des Phosphatidgehalts bei Rana temporaria, sowohl bei frischen, eben eingefangenen, als auch bei solchen, die angefangen haben zu hungern, oder schon mehr oder weniger lange Zeit gehungert hatten, fehlen, so schritten wir zur quantitativen Bestimmung der genannten Lipoide, genauer gesagt bestimmten wir den Phosphor der Phosphatide. Vorläufig beschränkten wir uns bei unseren Bestimmungen auf die Phosphorbestimmung solcher Phosphatide, die in Äthylalkohol, Schwefeläther und Petroleumäther löslich sind.

Die Methoden, die zur quantitativen Extraktion der Phosphatide aus tierischen Organen usw. angewandt werden, sind recht mannigfaltig[1]). Wir bedienten uns folgender Methode, die sich für unsere Untersuchungen als recht geeignet erwies wegen ihrer verhältnismäßigen Einfachheit und genügenden Sicherheit der erzielten Resultate. Zuerst wurden die Frösche in gewöhnlichem Wasser abgewaschen, das vollständig fortgegossen wurde; danach wurden die Frösche gründlich mittels der Fleischhackmaschine zerkleinert. Die zerkleinerten Massen wurden mehrfach (8 bis 10mal) durch die Maschine gelassen zwecks möglichst guter Zerkleinerung und möglichst voller Vermischung. Auf diese Weise dienten also als Ausgangsmaterial Frösche in toto mitsamt allen inneren Organen.

Die erhaltene breiige Masse wurde dann lange und gründlich in einer Porzellanschale durchgemischt, wonach dieser zwei Proben entnommen wurden: eine kleinere (mehrere Dekagramme) zur Bestimmung des Trockenrückstandes und die größere (der Rest) zur Extraktion der Phosphatide.

Die zur Bestimmung des Trockenrückstandes gewonnene Probe wurde mehrere Stunden auf dem kochenden Wasserbade ge-

---

[1]) Vgl. I. Bang, Ergebnisse der Physiologie, Jahrg. 6, S. 131 bis 186. — Derselbe, Chemie und Biochemie der Lipoide, 1911. — S. Fränkel, Darstellung von Lipoiden aus Gehirn und anderen Geweben. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von E. Abderhalden, 5, 613; vgl. auch verschiedene recht zahlreiche Arbeiten über die Chemie und Biochemie verschiedener Lipoide pflanzlicher und tierischer Herkunft.

halten und dann in den Trockenschrank gesetzt bei einer Temperatur von 105 bis 110° — bis zum konstanten Gewicht.

Die für die quantitative Bestimmung der Phosphatide gewählte Probe wurde mit entwässertem schwefelsaurem Natrium, von dem 30 bis 40 Gewichtsprozente der Probe genommen wurden, vermengt. Diese Vermengung wurde bei Zimmertemperatur angestellt und bei fortwährendem Umrühren, wobei die Mischung von selbst sich etwas anwärmte. Beim Stehen wurde die Mischung hart, so daß es erforderlich war, sie wieder zu zerkleinern, um die Extraktion mittels 95 bis 98°/₀ Äthylalkohol zu bewerkstelligen; die Alkoholmenge betrug das 4 bis 5 fache des ursprünglichen Volumens der Probe. Die Alkoholextraktion ging zunächst bei Zimmertemperatur vonstatten, wobei die Mischung öfters durchgeschüttelt wurde. Der Alkohol begann sich ziemlich schnell — nach 2 bis 3 Stunden — gelblich zu färben. Nach 4 bis 5 Tagen wurde die Mischung auf 60 bis 65° angewärmt und unter öfterem Durchschütteln 3 bis 4 Stunden bei genannter Temperatur gehalten; weiter wurde die Mischung bei Zimmertemperatur ca. 24 Stunden stehengelassen, wo nach der Alkoholextrakt mit Hilfe der Wasserpumpe abfiltriert wurde. Der Rest wurde gründlich ausgepreßt und wieder in geschilderter Weise mit warmem (60 bis 65°) Alkohol extrahiert. Auf diese Art wurden 5 Alkoholextrakte gewonnen. Aus den alkoholischen Extrakten wurde der Alkohol fast restlos entfernt, indem man dieselben bei 45 bis 50° mit einem Quantum wasserfreien schwefelsauren Natriums stehen ließ. Der Rest, in dem noch etwas Alkohol enthalten war, weiter das erwähnte Salz, Lipoide, Fette usw., wird mit Schwefeläther extrahiert; letzterer wird in einem relativ großem Quantum genommen. Der Ätherextrakt wird zuerst mit wasserfreiem schwefelsaurem Natrium getrocknet, dann mit Chlorcalcium. Der Äther wird entfernt und der erhaltene Rest mittels Petroleumäther extrahiert (Siedepunkt 50 bis 55°). Für gewöhnlich löste sich im Petroleumäther fast alles, was in dem getrockneten Schwefelätherextrakt enthalten war. Auf diese Art wird jeder von den obenerwähnten Alkoholextrakten bearbeitet. Wie weiter gezeigt sein wird, gehen die Phosphatide in der Hauptsache in die zwei ersten Alkoholextraxte über. Die auf diese Weise erhaltenen Phosphatide erwiesen sich in Aceton

teilweise löslich (vgl. weiter unten). Die Phosphorbestimmung wurde ausgeführt, indem der trockene Rest eines bestimmten Volumens des Petroleumätherextraktes verbrannt wurde mit einem Gemisch aus Soda und Natriumsalpeter.

Die zusammengeschmolzene Masse wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Salpetersäure angesäuert, eingeengt und mittels Molybdänmischung gefällt. Der erhaltene Niederschlag wird einige Male mit einer 10%igen Lösung von salpetersaurem Ammonium durchgewaschen und in verdünntem Ammoniak gelöst; die Lösung wird mittels Ammoniak-Magnesiamischung gefällt. Weiter werden zwei Kontrollversuche beschrieben werden, aus denen zu ersehen ist, daß 1. die Extraktion der uns interessierenden Phosphatide mittels Äthylalkohol verhältnismäßig recht schnell vonstatten geht und daß 2. die Verwendung von Aceton zum Entwässern der zu extrahierenden Massen, sowie auch zum Reinigen der Phosphatide von Fetten usw. nicht zulässig ist, weil die Phosphatide (ihre Mischung) in Aceton recht wesentlich gelöst werden. Es ist noch zu erwähnen, daß zu allen Versuchen Frösche von mittlerer Größe (25 bis 30 g) verwandt wurden, Männchen und Weibchen in gleichen Quantitäten.

Versuch 1.

Extraktion der Phosphatide mittels Äthylalkohol.

Verwandt sind 530 g zerkleinerter Frösche (Männchen und Weibchen zu gleichen Teilen), die ca. 5 Monate im Laboratorium gewesen waren. Der erste Äthylalkoholaufguß: Die Masse wird mit 200 g wasserfreiem schwefelsaurem Natrium vermengt und 2 l 96%iger Äthylalkohol hinzugegeben. Die Extraktion dauerte bei oft wiederholtem Durchschütteln etwa 80 Stunden. Dann wurde die Mischung etwa 3 Stunden bei 60 bis 65° angewärmt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen; hierauf wurde der Alkoholextrakt abfiltriert.

Der zweite Alkoholextrakt wurde ebenso gewonnen und zum ersten gefügt. Der dritte und vierte Extrakt war sehr schwach gefärbt; der vierte Extrakt enthielt eine nur unbedeutende Menge Trockenrückstand. (Eine Probe von 100 ccm aus dem vierten Extrakt gab nach dem Verdampfen nur Spuren von Rückstand.) Diese beiden Extrakte wurden vereinigt. Der fünfte Alkoholextrakt war fast vollständig farblos und ent-

hielt noch weniger Trockenrückstand als der vierte. Er wurde gesondert untersucht.

Aus den Extrakten wurde der Äthylalkohol in der oben beschriebenen Weise entfernt. Dann wurden Schwefelätherextrakte angefertigt. Letztere werden getrocknet; der Äther wird entfernt und der Trockenrückstand in Petroleumäther gelöst.

Es erwies sich, daß die ersten zwei Alkoholextrakte 0,1487 g Phosphor enthielten, in dem dritten und vierten Extrakt fand sich 0,0101 g Phosphor; in dem fünften waren nur Spuren feststellbar. Die 5 mal mittels Alkohol extrahierte Substanz wurde 2 Wochen lang mit Schwefeläther bei Zimmertemperatur stehengelassen; der so erhaltene Ätherextrakt gab einen sehr unbedeutenden Trockenrückstand, in dem Spuren Phosphatidphosphor enthalten waren.

Weiter wurde die Substanz mit 96 $^0/_0$igem Äthylalkohol auf dem kochenden Wasserbad 4 Stunden lang gekocht; hierbei kochte der Spiritus selbst fast $3^1/_2$ Stunden. Der auf diese Weise erhaltene Extrakt war schwach strohgelb gefärbt, gab einen unbedeutenden Trockenrückstand, der etwas klebte, sich schlecht in Schwefeläther und sehr schlecht in Petroleumäther löste. Der Petroleumätherextrakt dieses Niederschlages enthielt gar keinen Phosphor. Zuletzt wurde die mittels heißem Alkohol bearbeitete Masse auf dem Wasserbade mit kochendem Schwefeläther extrahiert. Im auf diese Weise erhaltenen Extrakt blieb eine ganz unbedeutende Menge Trockenrückstand übrig; wurde letzterer mittels Petroleumäther bearbeitet, so erhielt man einen fast farblosen Extrakt, in dem kein Phosphor enthalten war.

Dieser Versuch zeigt uns, daß 1. die für uns interessanten Phosphatide relativ ohne Schwierigkeiten aus den Fröschen mittels konzentrierten Äthylalkohols, der in der oben beschriebenen Weise verwandt wird, gewonnen wurden und 2. die Hauptmenge der in Betracht kommenden Phosphatide (in unserem Versuch fast 94 $^0/_0$) in die zwei ersten Extrakte übergeht.

Die beschriebene Methode zum Extrahieren der erwähnten Phosphatide hat im Prinzip nichts Neues an sich. So hat Manasse[1]) gezeigt, daß durch wiederholtes Extrahieren mittels

[1]) Diese Zeitschr. 1, 246, 1906.

warmen, absoluten Alkohols aus dem Eigelb vollständige Entfernung der Lecithine zu erzielen ist. Warmer Alkohol wurde auch zwecks vollständigen Entfernens der Lecithine und anderer Phosphatide aus Pflanzensamen verwandt (E. Schulz)[1]. H. Vageler[2]), der sich mit der quantitativen Bestimmung der Phosphatide in Substanzen tierischer und pflanzlicher Herkunft beschäftigt hat, weist darauf hin, daß eine 10 Stunden währende Extraktion mittels heißen Alkohols genügt, um die Phosphatide vollständig abzusondern. Höchstens bedarf es einer zweimaligen Extraktion.

Versuch 2.

Bekanntlich ist zum Reinigen der Phosphatide von Fetten und Cholesterinen von Zuelzer vorgeschlagen worden, die Phosphatide aus der Ätherlösung mittels Aceton auszufällen. Der Autor selbst bemerkt jedoch, daß Aceton auch Phosphatide zu lösen imstande ist; aus diesem Grunde ist die Anwendung des Acetons zum Extrahieren der Phosphatide mit gewissen Verlusten der letzteren verbunden[3]).

Einige andere Autoren sprechen sich auch dagegen aus, Aceton zur quantitativen Ausfällung der Phosphatide, zur quantitativen Scheidung von Fetten, Cholesterinen u. a. zu verwenden. (Vgl. J. Nerking, diese Zeitschr. 10, 193, 1908; ebenda 23, 262, 1910. — A. Erlandsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 1907 u. a.)

Zum Zweck der Orientierung über diese Frage hatten wir schon früher einige Versuche angestellt (Reinigung der Lecithine, die aus dem Eigelb gewonnen wurden; Reinigung der Phosphatide des Gehirns von Kaninchen und Hunden). Diese Versuche haben uns gezeigt, daß tatsächlich bedeutende Mengen von Phosphatiden in Aceton- oder Acetonäthermischungen übergehen, und zwar beim Gewinnen derselben aus den Gehirnen und dem Eigelb. Dasselbe findet statt beim Reinigen und Abscheiden der Phosphatide aus den Ätherlösungen. Es erwies sich, das dasselbe auch beim Gewinnen der Phosphatide aus Fröschen stattfindet. Der unten geschilderte Versuch beweist das zur Genüge. Zu

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 338, 1908.
[2]) Diese Zeitschr. 17, 189, 1909.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 27.

unserem Versuch wurde ein Teil derjenigen Masse von zerkleinerten Fröschen verwandt, die für den Versuch 1 gedient hatte. Sie wog 545 g. Das zum Extrahieren verwandte Aceton hatte einen Siedepunkt von 55 bis 60° (im Laboratorium destilliert). Extrahiert wurde bei Zimmertemperatur. Wir erhielten 3 Extrakte; für jeden wurden 2 l Aceton verwandt. Jede Extraktion währte 3 bis 4 mal 24 Stunden. Alle drei Extrakte wurden dann zusammengegossen, mittels geglühten schwefelsauren Natriums entwässert; darnach wurde der größte Teil des Acetons abdestilliert (bei einer 60° C nicht überschreitenden Temperatur). Der Rest des Acetons wurde entfernt, indem die mit entwässertem, schwefelsaurem Natrium vermengten Extrakte in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bei 45 bis 50° gehalten wurden. Der nach Entfernung von Aceton erhaltene Rest wurde mit Schwefeläther extrahiert. Der Ätherextrakt wurde mittels Chlorcalcium getrocknet, eingedampft und aus dem trockenen Restbestand wurde nun ein Extrakt mittels Petroleumäther gemacht; letzterer wieder mit Chlorcalcium behandelt. Der Phosphorgehalt dieses Extraktes betrug 0,1222 g. Die mit dem Aceton extrahierte Masse wurde nun mehrfach mittels angewärmten Äthylalkohols extrahiert in der Weise, wie das oben beschrieben ist. Es wurden so 4 Extrakte gewonnen, wobei im letzten kein Phosphor mehr enthalten war. Die ersten drei Extrakte wurden in derselben Weise untersucht, wie das schon bei dem Versuch 1 bezüglich der Alkoholextrakte beschrieben ist. Schließlich erhielten wir den Petroleumätherextrakt, dessen Phosphorgehalt 0,049 g betrug. Somit lehrt unser Versuch, daß bei der unmittelbaren Bearbeitung der zerkleinerten Frösche mittels Aceton bei Zimmertemperatur in denselben diejenigen Phosphatide übergehen, die in Schwefeläther und Petroleumäther löslich sind. Dieser Übergang findet in einer relativ beträchtlichen Menge statt.

Desgleichen erhielten wir bei einem der vorläufigen Versuche alkoholische und schwefelätherische Extrakte von 412,3 g Fröschen, die im Laboratorium überwintert hatten. Die Extrakte lieferten einen Trockenrückstand, der mittels Aceton extrahiert wurde, und zwar bei leichtem Anwärmen. Die Acetonextrakte (3) wurden bei Zimmertemperatur 24 bis 48 Stunden lang gehalten und von den in ihnen ausgefallenen Niederschlägen ge-

trennt. Hiernach wurde alles, was im kalten Aceton sich nicht gelöst hatte, mittels Schwefeläther extrahiert. Bevor der Phosphorgehalt bestimmt wurde, trockneten wir die Aceton- und Ätherextrakte mit Chlorcalcium. Der Phosphorgehalt der Acetonextrakte erwies sich gleich 0,079 g, der der Ätherextrakte 0,0163 g. Somit gingen in den Aceton ca. 83 % der Phosphatide — auf das Phosphorquantum berechnet — über. Bei einem anderen Versuch, bei dem die Phosphatide aus den zerkleinerten Fröschen (423,5 g) extrahiert wurden, gingen in die Acetonextrakte etwa 92 % aller Phosphatide, auf das Phosphorquantum berechnet, über.

Wir bedienten uns der beschriebenen Methode zum Extrahieren der Phosphatide (die in Alkohol, Schwefeläther und Petroleumäther löslich sind) und führten die quantitative Bestimmung der erwähnten Lipoide bei drei Kategorien von Fröschen aus: 1. bei ganz frischen, eben eingefangenen Herbstfröschen, 2. bei Fröschen, die angefangen hatten, zu überwintern, aber verhältnismäßig noch nicht lange im Laboratorium verweilt hatten, und 3. bei Fröschen, die überwintert hatten.

Das von uns gesammelte Material genügt jedenfalls zur vorläufigen Orientierung in der Frage 1. wieviel Phosphor der von uns untersuchten Phosphatide im Körper der Rana temporaria enthalten ist, und zwar derjenigen Art, die bei Dorpat (Livland) zu haben ist und mit der wir zu arbeiten haben, und 2., ob diese Tiere irgendwelchen Veränderungen bezüglich des Phosphatidgehaltes unter dem Laboratoriumhungerzustand während der kalten Jahreszeit unterworfen sind.

A. Die Phosphorbestimmung der Phosphatide bei frischen Fröschen.

Erste Bestimmung. Ausgeführt bei Fröschen, die Mitte August 1912 eingefangen waren. Verarbeitet wurden 16 Männchen und 16 Weibchen. Bestimmung des Trockenrückstandes: genommen sind 81,15 g feuchter Masse der zerkleinerten Frösche. Nach Trocknen bis zum konstanten Gewicht bei 105 bis 110° erhielten wir 19,55 g Trockenmasse, gleich 24,1 %.

Bestimmung der Phosphatide: genommen sind 861,5 g feuchter Masse der zerkleinerten Frösche. Bei der fünften Ex-

traktion mittels Äthylalkohol wurde ein Extrakt erzielt, der fast vollständig farblos war und nur Spuren von Phosphor der Phosphatide enthielt. Aus den Trockenrückständen der ersten vier Alkoholextrakte wurde schließlich mit Hilfe von Petroleumäther ein Extrakt von 680 ccm angefertigt. In jeden 100 ccm dieses Extraktes waren 0,0451 g Phosphor enthalten. Folglich betrug der Gesamtphosphorgehalt der Phosphatide 0,3067 g, d. h. 0,0356 % gerechnet auf die feuchte Substanz, oder 0,148 % auf den Trockenrest berechnet.

Zweite Bestimmung. Ausgeführt an Fröschen, die in der zweiten Hälfte des September 1913 eingefangen waren und im Laboratorium (in einem Behälter mit fließendem Wasser, in einem kühlen Raume) etwa 1 Woche verbracht hatten. Bestimmung des Trockenrückstandes: genommen sind 73,22 g feuchter Masse von zerkleinerten Fröschen. Nach Austrocknen bis zum konstanten Gewicht bei 105 bis 110° erhielten wir 17,11 g Substanz, gleich 23,3 %. Bestimmung des Phosphors der Phosphatide: verarbeitet sind 1393 g feuchter Masse der zerkleinerten Frösche. Die Lösung der Phosphatide in Petroleumäther diente unmittelbar zur Bestimmung des Phosphors.

Der Phosphor der Phosphatide betrug 0,4537 g gleich 0,0326 % auf die feuchte Masse berechnet, gleich 0,14 % auf die Trockensubstanz berechnet. Somit enthielten unsere frischen Frösche, die während der genannten Monate eingefangen waren, ein nicht ganz gleiches Quantum Phosphor der uns interessierenden Phosphatide, im Durchschnitt 0,034 % auf die feuchten Frösche berechnet.

B. Phosphorbestimmung der Phosphatide bei Fröschen, die überwintert hatten.

Zur Bestimmung dienten Frösche — Männchen und Weibchen in gleicher Zahl —, die im Herbst 1912 eingefangen waren und im Kühlraume des Institutes bis Mai 1913 (ca. 7½ Monate) verbracht hatten.

Bestimmung des Trockenrückstandes: Genommen sind 83,3 g feuchter Masse der zerkleinerten Frösche. Nach Trocknen bis zum konstanten Gewicht bei 105 bis 110° erhielten wir 14,51 g Substanz, gleich 17,4 % Trockenrest.

Phosphorbestimmung der Phosphatide: Verarbeitet

sind 2000 g feuchter Masse von zerkleinerten Fröschen. Angefertigt wurden fünf alkoholische Extrakte, aus deren Trockenrückständen ein Extrakt mittels Petroleumäther hergestellt wird, gleich 450 ccm. Dieser Extrakt enthielt 0,5242 g Phosphor gleich 0,0262 % Phosphor auf die feuchten Frösche berechnet und 0,151 % auf den Trockenrückstand berechnet.

Somit erweist es sich, daß die Frösche, die ca. $7^1/_2$ Monate im Kühlraum des Institutes, in einem Behälter mit fließendem Wasser ohne Nahrung verbracht hatten, bedeutend weniger Trockenrückstand enthielten; desgleichen enthielten sie auch relativ bedeutend weniger Phosphatide im Vergleich zu den frischen Fröschen.

Das Sinken der Menge des Trockenrückstandes im Organismus der hungernden Frösche ist eine schon bekannte Tatsache. Wir konstatieren hier, soweit wir darüber orientiert sind, zum ersten Male das relative Sinken der Phosphatidmenge (wenigstens solcher Phosphatide, die in Äthylalkohol, Schwefeläther und Petroleumäther löslich sind) bei Fröschen, die überwintern resp. hungern. Augenscheinlich ist dieses Sinken geringer als dasjenige der Trockensubstanzen des Organismus; infolgedessen steigt bei den überwinternden Fröschen etwas der auf den Trockenrückstand berechnete Phosphatidgehalt.

C. Bestimmung des Phosphors der Phosphatide bei Fröschen, die zu überwintern begonnen hatten.

Zu dieser Bestimmung wurden Frösche verwandt, die Anfang September eingefangen waren und im Laboratorium (im Kühlraum) 5 Wochen verbracht hatten.

Bestimmung des Trockenrückstandes: Genommen wurden 65,3 g feuchter Masse von zerkleinerten Fröschen. Trockenrückstand betrug 14,21 g gleich 21,7 %.

Bestimmung des Phosphorgehaltes der Phosphatide: Verarbeitet sind 855 g feuchter Masse der zerkleinerten Frösche. Der zum Schluß erhaltene Ätherextrakt (500 ccm) enthielt 0,2006 g Phosphor, gleich 0,034 % auf die feuchten Frösche berechnet, gleich 0,157 % auf den Trockenrückstand gerechnet. Wir sehen also, daß sich bei diesen Fröschen keine relative Abnahme der erwähnten Phosphatide eingestellt hat; einigermaßen abgenommen hat der Gehalt an Trockensubstan-

zen, so daß die Phosphatidmenge im Verhältnis zum Trockenrückstand gestiegen ist.

D. Bestimmung des Phosphors der Phosphatide bei Fröschen, die im Laboratorium überwintert hatten.

Zu dieser Bestimmung dienten Frösche, die im Laboratorium etwas über 3 Monate bis Anfang Januar überwintert hatten.

Bestimmung des Trockenrückstandes: Verarbeitet wurden 72,1 g feuchter Masse von zerkleinerten Fröschen. Der Trockenrückstand betrug 20,6 %.

Bestimmung des Phosphors der Phosphatide: Verwandt wurden 489 g feuchter Masse der zerkleinerten Frösche.

Der letzte, zum Schluß erzielte Petroleumätherextrakt enthielt 0,1602 g Phosphor, gleich 0,0328 % auf die feuchte Masse berechnet, gleich 0,159 % auf den Trockenrückstand berechnet.

Somit haben also Frösche, die im Laboratorium ca. 3 Monate verbracht haben, relativ wenig von ihrem Phosphatidvorrat eingebüßt, wenigstens derjenigen Phosphatide, von denen die Rede ist. Der Hungerzustand hat aber zweifelsohne auf den Gehalt an Trockensubstanzen des Organismus einen Einfluß ausgeübt; das Quantum dieser ist zurückgegangen.

Die oben angeführten Ergebnisse der Analysen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Auf dieser Tabelle ist in der letzten Rubrik unter „Phosphor A'" der Prozentgehalt an Phosphor, berechnet auf die feuchten Frösche, angegeben; unter „B'" der Phosphorgehalt (in %), berechnet auf die Trockensubstanz der Tiere.

	Trockenrückstand %	Phosphor	
		A' %	B' %
Ganz frische Frösche	24,1	0,0356	0,148
Frische, ca. 1 Woche im Laboratorium gehaltene Frösche	23,3	0,0326	0,140(?)
Frösche, die im Laboratorium 5 Wochen verbracht hatten	21,7	0,034	0,157
Frösche, die im Laboratorium 3 Monate verbracht hatten	20,6	0,033	0,159
Frösche, die im Laboratorium $7^1/_2$ Monate verbracht hatten	17,4	0,026	0,151

Es hat sich also ergeben, daß bei Fröschen, die mehr oder weniger lange im Laboratorium überwintert haben, der Phosphatidgehalt deutlich abnimmt. Bei Fröschen, die bei uns ca. 7 Monate überwintert hatten, betrug diese Abnahme ungefähr 27%.

In unserer Mitteilung über die Beeinflussung der Ricinwirkung durch Lecithine ist darauf hingewiesen, daß diese Beeinflussung sich bei frischen Fröschen anders gestaltet, als bei solchen, die im Laboratorium gesessen resp. gehungert haben. Von der Annahme ausgehend, daß der Einfluß der Lecithine auf die Wirkung irgendeines Medikamentes wesentlich abhängig ist von der Lipoidnatur der genannten Phosphatide, dachte ich, daß der erwähnte Unterschied in der Lecithinwirkung möglicherweise vor allem abhängen könnte von der beträchtlichen (erwarteten!) Abnahme der Phosphatide im Körper der Frösche, die gehungert hatten. Nun lehren uns unsere hier geschilderten quantitativen Bestimmungen, daß im Organismus der überwinternden resp. hungernden Frösche die Phosphatide tatsächlich schwinden (wenigstens diejenigen, mit denen wir bei unseren Versuchen zu tun hatten); dieser Schwund ist jedoch nicht so prägnant, daß der Unterschied in der Lecithinwirkung bei frischen Fröschen einerseits und bei nicht frischen andererseits sich nur aus diesem Bruttoschwund erklären ließe: wurden doch die Lecithine bei unseren Versuchen in sehr verschieden großen Gaben angewandt.

Wie sich die Sache auch verhalten mag mit dem Allgemeinschwund der Phosphatide, als auch mit dem Schwunde derselben in den verschiedenen einzelnen Organen während des Hungerzustandes des ganzen Organismus, so ist es klar, daß noch besondere Untersuchungen nötig sind, um die Frage zu klären, weshalb die frischen Frösche sich bei einigen Vergiftungen anders zu der Lecithinwirkung verhalten als Frösche, die nicht mehr frisch sind und gehungert haben.

Bildung von Saligenin aus Salicylaldehyd durch Hefe.

Von

Paul Mayer.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 31. März 1914.)

Zu vielen grundlegenden Untersuchungen über die Wirkung der tierischen Oxydasen (E. Salkowski, M. Jacoby, Battelli und Stern u. a.) hat der Salicylaldehyd Verwendung gefunden, der dabei in Salicylsäure übergeführt wird. Nach Battelli und Stern[1]) vollzieht sich der Übergang des Salicylaldehyds in Salicylsäure nach dem Schema der Cannizzaroschen Reaktion, d. h. durch Oxydation von einem Molekül Salicylsäure durch den Sauerstoff des Wassers, wobei ein anderes Molekül zu Saligenin reduziert wird. Zwar haben die Autoren beide Substanzen nur colorimetrisch nachgewiesen; doch dürfte nach Analogie mit anderen Aldehyden (J. Parnas) der angenommene Reaktionsverlauf wohl als sicher zu betrachten sein.

Nachdem durch neuere Untersuchungen das starke Reduktionsvermögen der Hefe und Hefenpräparate bekannt geworden ist (s. die Arbeiten von C. Neuberg und seinen Mitarbeitern), schien es mir von Interesse, wie sich zu diesem biologischen Agens der vielbenutzte Salicylaldehyd verhält, eine Frage, die auch insofern Bedeutung besitzt, als der Salicylaldehyd und das zugehörige Saligenin sich in der Natur vorfinden, ersterer in verschiedenen flüchtigen Pflanzenölen und letzterer als Bestandteil von Glucosiden.

Bezüglich der Reduktion des Salicylaldehyds durch Hefe habe ich mich im allgemeinen an die im hiesigen Laboratorium benutzten Vorschriften gehalten. Doch zwang mich die Giftigkeit des Salicylaldehyds — seine antiseptische Kraft ist bekannt — zu einigen besonderen Maßnahmen.

Zunächst zeigte sich, daß Unterhefe gegen Salicylaldehyd

---

[1]) J. Battelli und L. Stern, diese Zeitschr. 20, 130, 1910.

recht empfindlich ist. In Zuckerlösungen, die mit Hefe K des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin in lebhafte Gärung versetzt sind, hört nach Zusatz von Salicylaldehyd sehr schnell die Gasentwicklung auf und kommt nicht wieder in Gang, einerlei ob die Gemische bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank aufbewahrt werden.

Günstiger sind die Verhältnisse bei Verwendung von obergäriger Hefe, insbesondere bei Benützung der gärkräftigen Sorte M, die eine Mischrasse darstellt. Mit dieser ist eine, wenn auch geringe Umwandlung des Salicylaldehyds in Saligenin unter folgenden Bedingungen möglich gewesen.

2000 ccm 10%iger Rohrzuckerlösung wurden mit 200 g Hefe M bei Zimmertemperatur in Gärung versetzt, und sobald diese lebhaft war, wurde mit dem Eintragen des Salicylaldehyds begonnen. 8,5 g des letzteren wurden aus einem kleinen Scheidetrichter tropfenweise, sehr langsam und unter dauerndem Schütteln hinzugefügt. Dabei trat zwar eine sehr erhebliche Verminderung der Gärung, aber anfänglich keine Unterbrechung ein. Nach einigen Stunden hörte jedoch die Gärung völlig auf, obgleich noch sehr viel Invertzucker vorhanden war. Durch Eintauchen in große Kübel mit Wasser von 40° und Zusatz von 50 g frischer Hefe kam wiederum eine mäßige Gärung auf, die jedoch bei 24stündigem Stehen im Brutschrank erlosch. Da noch reichlich unveränderter Salicylaldehyd vorhanden war, so wurde die beschriebene Prozedur zweimal wiederholt. Dann wurden noch einmal 50 g Zucker, 500 g Leitungswasser und 50 g Hefe zugegeben und schließlich nach 2 Tagen abermals 200 g frische Hefe hinzugesetzt. Das dann noch 2 weitere Tage unter öfterem Umschütteln im Brutschrank belassene Gemisch roch noch immer nach Salicylaldehyd. Es wurde nunmehr filtrirt und lief durch ein Faltenfilter leidlich klar ab. Ein zweiter Ansatz mit 10 g Salicylaldehyd, aber im übrigen mit den gleichen Mengen von Zucker, Wasser und Hefe, wurde gleichzeitig hergerichtet und ganz in derselben Weise verarbeitet. — Die vereinigten Filtrate wurden nun mit etwa dem doppelten Quantum derjenigen Mengen 30%iger Natriumbisulfitlösung (125 ccm) versetzt, die zur Bindung des gesamten angewandten Salicylaldehyds (18,5 g) notwendig gewesen wäre. Das Gemisch wurde nunmehr portionsweise achtmal mit

reichlichen Mengen Äther extrahiert. In der ätherischen Lösung waren die Umwandlungsprodukte des Salicylaldehyds zu suchen, während in der wässerigen Schicht unveränderter Salicylaldehyd als Bisulfitverbindung hinterbleiben mußte. Der wässerige Anteil ist nicht weiter untersucht worden. Jeder der sauren Ätherauszüge wurde mit einer verdünnten wässerigen $NaHCO_3$-Lösung mehrfach durchgeschüttelt, um die Salicylsäure abzutrennen. Nach Entfernung der alkalischen Schicht wurde jedesmal die hinterbleibende ätherische Lösung über geglühtem Glaubersalz scharf getrocknet und verdampft, wobei der abdestillierte Äther stets zur Ausschüttelung der folgenden Portion benutzt wurde. Es hinterblieb schließlich eine dunkelgefärbte Lösung, die beim Verdunsten einen bräunlichen, öldurchtränkten Rückstand hinterließ. Nach mehrtägigem Stehen im Vakuumexsiccator wurde dieser Rückstand mit einigen Tropfen Wasser angerührt und auf Ton abgepreßt. Es resultierte so eine grauweiße Krystallmasse, die nach zweimaligem Umkrystallisieren aus siedendem Wasser unter Zusatz von Knochenkohle eine schön krystallisierte, rein weiße Substanz lieferte und nach dem Absaugen und Trocknen im Vakuum bei 84° schmolz. Für reines Saligenin wird der Schmelzpunkt 86° angegeben. Daß tatstächlich Saligenin vorlag, zeigten sowohl die Farbenreaktionen mit Eisenchlorid und konz. Schwefelsäure, die typisch ausfielen, als auch die Elementaranalyse.

0,1519 g Substanz: 0,3745 g CO_2, 0,0877 g H_2O.

$C_7H_8O_2$ Ber.: C = 67,74; H = 6,45 %;
gef.: C = 67,30; H = 6,40 %.

Die Ausbeute an Saligenin ist freilich nur gering gewesen; sie belief sich auf 0,32 g. Hierbei ist einerseits zu berücksichtigen, daß die Isolierungsmethode keine quantitative ist, und daß andererseits der Salicylaldehyd sich als schweres Gift für die Hefe erwiesen hat.

Die Untersuchung der natronalkalischen Auszüge, in denen etwa gebildete Salicylsäure sich hätte vorfinden müssen, hat zu keinem Resultat geführt. Nach dem Ansäuern mit H_2SO_4 nahm der Äther allerdings eine Substanz auf, die in wässeriger Lösung die Eisenchloridreaktion gab, aber nicht krystallinisch erhalten werden konnte. Auch die Versuche, Salicylsäure als Barium- oder Calciumsalz abzuscheiden, schlugen fehl.

Beitrag zur Frage der Kohlensäurebildung durch Organe.

Von

Paul Mayer.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 31. März 1914.)

Die Spaltung der organischen Substanzen liefert für alle Lebewesen die notwendige Energie für den Betrieb ihres Organismus. In der Mehrzahl der Fälle ist diese Spaltung mit einer Sauerstoffaufnahme verknüpft und findet ihren Ausdruck im Gesamtstoffwechsel durch die Ausscheidung von Kohlensäure, die auf oxydativem Wege entstanden ist. Außer dieser Art des Kraftgewinns besteht noch eine zweite, die ohne Sauerstoffverbrauch zustande kommt und durch die sogenannten anoxybiotischen Vorgänge geliefert wird.

Auf Grund der neueren Ergebnisse über die Vorgänge im intermediären Stoffwechsel hat die Anschauung immer mehr an Boden gewonnen, daß es sich bei der Verbrennung im Tierkörper um Stufenreaktionen handelt, im Verlaufe derer die oxydable Substanz sukzessive eines oder mehrere ihrer Kohlenstoffatome verliert, bis sie schließlich das Oxydationsendprodukt CO_2 ergibt.

Die Erkenntnis dieser Vorgänge steht noch im Anfang der Erforschung, und es sind erst wenige Beispiele bekannt, wo wir bei den Eiweißbausteinen und den Kohlenhydraten jene gradatim sich vollziehende Kohlensäureloslösung verfolgen können.

Durch die bekannten Untersuchungen Neubauers ist es wahrscheinlich geworden, daß die erste Stufe der Umbildung von Aminosäuren im Organismus in einem Übergang in die entsprechende α-Ketosäure besteht. Dieselben α-Ketosäuren sind nun nach den Untersuchungen Neubergs befähigt,

unter der Einwirkung der Carboxylase, eines in Hefen und höher entwickelten Pflanzen nachgewiesenen Enzyms, Kohlensäure abzuspalten und so in eine um ein Kohlenstoffatom ärmere Verbindung überzugehen.

Auch für den Tierkörper liegen gewisse Anhaltspunkte für eine derartige Umwandlung in den Durchblutungsversuchen Embdens und seiner Mitarbeiter vor.

Von besonderem Interesse ist die Frage, ob solche Kohlensäureloslösungen auch ohne Sauerstoffzufuhr im Tierkörper möglich sind. Würden sie doch im gewissen Sinne ein Licht werfen auf die anoxybiotischen Zellvorgänge, durch die bestimmte Lebewesen und für eine gewisse Zeit auch der menschliche Organismus seinen Energiebedarf decken kann. Denn daß auch die einfachste biologische Kohlensäureloslösung eine positive Wärmetönung besitzen kann, haben erst kürzlich Neuberg und Rosenthal an der Brenztraubensäure dargetan, deren Spaltung durch die Carboxylase in Kohlensäure und Acetaldehyd ein exothermischer Prozeß ist.

Angesichts der großen Schnelligkeit, mit welcher kohlenstoffhaltiges Material im tierischen Organismus zu Kohlendioxyd verbrannt wird, muß man wohl annehmen, daß außerordentlich labile, zum Zerfall besonders geneigte intermediäre Substanzen auftreten.

Ein Paradigma einer solchen schien mir in der Oxalessigsäure vorzuliegen, die zu einer Reihe physiologisch wichtiger Substanzen in genetischer Beziehung steht (Asparaginsäure, Asparagin, Äpfelsäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure usw.) und durch ihren Bau zum anoxybiotischen Zerfall besonders disponiert ist. Sie ist erwiesenermaßen leicht vergärbar, und ich selbst habe früher für beide stereoisomeren Formen — Oxymaleinsäure und Oxyfumarsäure — die Zerlegbarkeit durch Hefencarboxylase nachgewiesen[2]). Da bei der Vergärung im Sinne der Gleichung:



$$COOH.CO.CH_2.COOH = 2\,CO_2 + CH_3.COH$$

2 Mol CO_2 gebildet werden, so war es denkbar, daß auch unter der Einwirkung von Organen eine Kohlensäureabspaltung eintreten könnte, an der beide Carboxylgruppen beteiligt sind.

---

[1]) C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. 61, 171, 1914.

[2]) P. Mayer, diese Zeitschrift 50, 283, 1913.

Bekanntlich verliert die Oxalessigsäure nach den Versuchen von Fenton[1]) und Wohl[2]) beim Kochen ihrer wässerigen Lösung Kohlensäure und geht zum Teil in Brenztraubensäure über.

Die im folgenden mitzuteilenden Versuche zeigen nun, daß beim Stehen im Brutschrank verdünnte Oxalessigsäurelösungen rund die Hälfte jenes Quantums Kohlensäure abspalten, das bei totalem Zerfall in Brenztraubensäure frei werden würde. Findet jedoch die Digestion einer gleich konzentrierten Oxalessigsäurelösung in Gegenwart von Organ statt, so ist jene „Ketonspaltung“ vollständig, indem mindestens so viel Kohlensäure frei wird, als dem quantitativen Übergang in Brenztraubensäure entspricht.

Diese Abspaltung von Kohlensäure kommt ohne Zufuhr von Sauerstoff zustande und verdient daher im Sinne der voraufgehenden Darlegungen Beachtung.

Die Versuchsanordnung war folgendermaßen: In einem geräumigen Brutschrank, der mehrere nach außen führende Tuben besaß, waren zwei Einliterflaschen untergebracht; jede derselben war mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen versehen, durch den ein auf den Boden reichendes gläsernes Gaszufuhrrohr sowie ein Gasableitungsrohr hindurchging. Beide Glasröhren waren durch den Tubus des Brutschranks nach außen geführt. Das Gaszufuhrrohr war mit einem sehr wirksamen Kaliapparat, sowie mit einem Kalistangen haltigen Turm und mit einer mit Kalilauge gefüllten Gaswaschflasche verbunden. Das Gasentbindungsrohr war gleichfalls durch den Tubus nach außen geführt und gasdicht mit zwei Borkschen Gaswaschflaschen verbunden, die zur Aufnahme des vorgelegten Barytwassers dienten, und die durch ein langes Natronkalkrohr von der Atmosphäre abgeschlossen waren. Haupt- und Kontrollversuch wurden stets gleichzeitig im selben Brutschrank vorgenommen. Beide wurden regelmäßig auf 24 Stunden ausgedehnt.

Zu Beginn des Versuches wurde jede der beiden Literflaschen mit 20 g Organ und 100 ccm Oxalessigsäurelösung bzw.

---

[1]) Fenton und Jones, Journ. chem. Soc. 1900, 77.

[2]) Wohl und Österlin, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 1139, 1901. — Wohl und Claußner, ebenda 40, 2308, 1907.

100 ccm destilliertem Wasser beschickt und etwa 5 ccm Toluol hinzugegeben. Alsdann wurde sofort das Gasableitungsrohr beider Systeme mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden und 15 Minuten lang ein schwacher Strom von Luft hindurchgesaugt, die durch Waschung in den erwähnten Kaliapparaten völlig von Kohlendioxyd befreit war. Nunmehr wurde schnell die Verbindung zwischen Gasableitungsrohr und Barytwasservorlagen hergestellt.

In den Oxalessigsäure-Versuchen war das Barytwasser nach Verlauf von 24 Stunden stets kräftig getrübt, während in dem Kontrollversuch (Organ und Wasser allein) eine kaum merkliche Trübung des Barytwassers eingetreten war. Nach 24 Stunden wurden beide Systeme durch das Natronkalkrohr wiederum mit der Wasserstrahlpumpe in Verbindung gesetzt und abermals $^1/_4$ Stunde lang kohlensäurefreie Luft hindurchgesaugt. Dabei ging erst die Hauptmenge der Kohlensäure aus dem im Brutschrank befindlichen Digestionsgefäß in die außen befindlichen Barytwasservorlagen über. Dieselben wurden alsdann aus der Verbindung mit der Apparatur gelöst, wobei durch Abklemmung der zuführenden Gummischläuche ein Eindringen von Kohlensäure verhütet wurde. Nach Entfernung des inneren Zylinders der Gaswaschflaschen und Abspritzen mit ausgekochtem kohlensäurefreien Wasser wurde die nicht verbrauchte Barytmenge in üblicher Weise sofort mit Normal-Oxalsäure zurücktitriert.

Blinde Versuche haben gezeigt, daß diese einfache Apparatur bei einiger Einübung völlig einwandfreie Resultate liefert; es gelingt leicht, einem Eintritt von atmosphärischer Kohlensäure in den Apparat vorzubeugen. Da die Digestion unter einer Toluolschicht stattfindet, ist praktisch die Sauerstoffzufuhr ausgeschaltet.

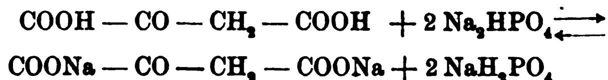
Unter diesen Bedingungen entwickeln Organ und Wasser allein keine oder höchstens Spuren von Kohlensäure. Dieses Resultat hat sich in sämtlichen der zahlreichen Kontrollen ergeben; es zeigt gleichfalls, wie sicher die Apparatur arbeitet. Natürlich steht dieses Verhalten keineswegs im Gegensatz zu den Ergebnissen von E. Freise[1]), der

[1]) E. Freise, diese Zeitschr. 54, 474, 1913.

bei künstlicher Durchblutung unter gleichzeitiger Sauerstoffeinleitung eine mehr oder minder beträchtliche Kohlensäureabgabe der Organe beobachtet hat.

Eine weitere Reihe von Kontrollen diente der Feststellung, wieviel Kohlensäure eine gleiche Menge Oxalessigsäure ohne Organzusatz innerhalb 24 Stunden im Brutschrank abspaltet. Diese Versuche wurden in derselben Apparatur angesetzt und ergaben ein ausgezeichnet übereinstimmendes Resultat. Rund $^1/_6$ vom Gewicht der Oxalessigsäure entwich gasförmig, während bei komplettem Zerfall das doppelte Quantum, $^1/_3$ des Gewichts, hätte abgespalten werden müssen. Denn beim Übergang von Oxalessigsäure (Mol.-Gew. 132) in Brenztraubensäure (Mol.-Gew. 88) wird ein Molekül Kohlensäure (Mol.-Gew. 44) frei.

Die ersten Organversuche wurden mit freier Oxalessigsäure ausgeführt. Dabei gab sich schon rein äußerlich zu erkennen, daß der Zusatz der außerordentlich stark sauren Oxalessigsäure für das Organsubstrat nicht gleichgültig ist; es kommt zu einer deutlichen Ausflockung, die wohl auf einer Fällung der Proteine beruht. Es ist nicht verwunderlich, daß das so geschädigte Organ auf die Oxalessigsäure nicht mehr einwirkt. In der Tat spalten die Organe aus freier Oxalessigsäure nicht mehr Kohlensäure ab, als aus einer wässerigen Oxalessigsäurelösung von gleicher Konzentration gebildet wird. Zur Vermeidung dieser Schädigung habe ich in allen weiteren Versuchen die stark saure Wirkung der Oxalessigsäure durch Pufferung mit Dinatriumphosphat abgeschwächt. Zu diesem Zwecke wurden auf 1 Molekül Oxalessigsäure 2 Moleküle krystallisiertes sekundäres Natriumphosphat ($Na_2HPO_4 + 12\,H_2O$) verwendet; und zwar wurden die stark abgekühlten Lösungen beider Substanzen vorsichtig miteinander vermischt. Es bleibt alsdann schwach saure Reaktion bestehen, die auf dem Gleichgewicht zwischen den beiden Systemen



$$COOH - CO - CH_2 - COOH + 2\,Na_2HPO_4 \rightleftarrows$$
$$COONa - CO - CH_2 - COONa + 2\,NaH_2PO_4$$

beruht.

Dabei zeigte sich, daß auf solche Weise gepufferte Oxalessigsäure bei der Digestion für sich (d. h. ohne Organ) die gleiche Menge Kohlendioxyd bildet wie ohne Zusatz von Phosphat.

Von dieser Mischung wurden aber die Organe nicht mehr geschädigt, und sie entwickelten eine weit größere Menge CO_2 aus der Oxalessigsäure — etwa das Doppelte —, als sich aus der Oxalessigsäurelösung ohne Organ abspaltete.

Da, wie bereits erwähnt, die Organe, die stets lebenswarm und möglichst steril entnommen wurden, an sich kein oder nur Spuren Kohlendioxyd produzierten, so geht daraus hervor, daß die Beigabe von Toluol auch wirksam einem späteren Bakterienwachstum vorgebeugt hat.

Es müssen demnach die in den Hauptversuchen gefundenen Quantitäten Kohlensäure auf eine Zerlegung der Oxalessigsäure bezogen werden. Da die Mengen sehr beträchtlich höher sind — um etwa 100% — als sie dem freiwilligen Zerfall der Oxalessigsäure entsprechen, so ergibt sich daraus, daß die Organe Oxalessigsäure ohne Sauerstoffzufuhr unter Abspaltung von Kohlensäure weitgehend zerlegen.

Versuche.

Die angewandte Oxalessigsäure war die malenoide Form, die ich aus Oxalessigester nach der Methode von Simon[1]) dargestellt habe. Die Substanz war absolut frei von Halogen und zeigte scharfen Schmelzpunkt (152°) und richtige Zusammensetzung. In allen Fällen wurden 0,66 g ($^1/_{200}$ Molekulargewicht) Oxalessigsäure in Wasser für sich bzw. mit 3,6 g krystallisiertem Dinatriumphosphat[2]) zu 100 ccm gelöst. Diese Lösungen wurden allein oder in den Organversuchen mit 20 g fein zerkleinertem Organ in der beschriebenen Weise im Brutschrank digeriert. Als Organe wurden Leber und Muskeln von Kaninchen und auch vom Schwein verwendet. Die Organkontrollen bestanden in einer Aufschwemmung von 20 g Leber oder Muskeln in 100 ccm destilliertem Wasser. Alle Digestionen dauerten 24 Stunden.

Für die Versuche wurde ein großes Quantum Barytwasser bereitet. Vorgelegt wurden in jedem Experiment 100 ccm, und zwar 50,0 ccm in jeder Waschflasche. Diese 100 ccm waren

---

1) Simon, Compt. rend. 137, 855, 1903.

2) Über die Herstellung der Lösungen s. S. 466.

äquivalent 23,0 ccm Normal-Oxalsäure. Die Standardlösung des Barytwassers wurde unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln aufgehoben und der Titer während der Dauer der Versuche unverändert gefunden.

Da die Ergebnisse der Versuche völlig gleichartig ausfielen und die Werte für Kohlensäure eine große Regelmäßigkeit aufwiesen, so genügt es, von jeder Kategorie einige Belege anzuführen.

A.
Ergebnisse der mit den Organen allein ausgeführten Versuche.

Bei 24 stündiger Digestion von 100 ccm H_2O mit	verbrauchtes Barytwasser ccm	Entwickelte CO_2 g
20 g Kaninchenleber . . .	0	0
20 g Kaninchenleber . . .	0,5	0,0110
20 g Kaninchenmuskeln .	0,2	0,0044
20 g Schweineleber . . .	0,3	0,0066

B.
Ergebnisse der Versuche mit freier Oxalessigsäure.

	Bei 24 stündiger Digestion von 0,66 g Oxalessigsäure in 100 ccm H_2O verbrauchtes Barytwasser ccm	Entwickelte CO_2 g
I	4,8	0,105
II	4,7	0,103
III	4,8	0,105

C.
Ergebnisse der Versuche mit gepufferter Oxalessigsäure.

	Bei 24 stündiger Digestion von 0,66 g Oxalessigsäure + 3,6 g Dinatriumphosphat in 100 ccm Wasser verbrauchtes Barytwasser ccm	Entwickelte CO_2 g
I	4,8	0,105
II	4,8	0,105
III	4,9	0,107
IV	4,7	0,103

D.

Ergebnisse der Versuche mit freier Oxalessigsäure und Organen.

Bei 24 stündiger Digestion von 0,66 g Oxalessigsäure in 100 ccm Wasser mit	verbrauchtes Barytwasser ccm	Entwickelte CO_2 g
20 g Kaninchenleber . . .	4,9	0,107
20 g Kaninchenleber . . .	4,8	0,105
20 g Kaninchenmuskeln .	5,0	0,110

E.

Ergebnisse der Versuche mit gepufferter Oxalessigsäure und Organen.

Bei 24 stündiger Digestion von 0,66 g Oxalessigsäure + 3,6 g Dinatriumphosphat in 100 ccm Wasser mit	verbrauchtes Barytwasser ccm	Entwickelte CO_2 g
20 g Kaninchenleber . . .	11,2	0,246
20 g Kaninchenleber . . .	9,8	0,215
20 g Kaninchenleber . . .	9,1	0,200
20 g Kaninchenmuskeln .	8,4	0,185
20 g Kaninchenmuskeln .	10,9	0,240
20 g Schweineleber . . .	11,5	0,253
20 g Schweineleber . . .	9,8	0,215
20 g Schweinemuskeln . .	9,6	0,211
20 g Schweinemuskeln . .	10,4	0,229

Phytochemische Reduktionen. II.

Umwandlung aliphatischer Nitrokörper in Aminoverbindungen.

Von

Carl Neuberg und Ernst Welde.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem.)

In der ersten Mitteilung über diesen Gegenstand[1]) haben wir auf die Bedeutung hingewiesen, welche die phytochemische Reduktion von Nitrogruppen für das Problem der Nitratassimilation besitzt. Denn es ist die Möglichkeit vorhanden, daß die erste Phase der Nitratverarbeitung in den Vegetabilien in der Bildung irgendwelcher organischer Nitrokörper besteht, die durch biologische Agenzien zu den wichtigen Aminoverbindungen des pflanzlichen Organismus reduziert werden. Für die experimentelle Behandlung dieses Gebietes, die bei höher entwickelten Pflanzen auf nicht unerhebliche Schwierigkeiten stößt, erwies sich uns die Gruppe der Hefen als ein geeignetes Material, und wir konnten erfolgreich die phytochemische Reduktion des Nitrobenzols zu Anilin mit Hilfe von arbeitender Hefe durchführen.

Wir konnten in unserer ersten Mitteilung bereits die Hoffnung aussprechen, durch Verwirklichung dieser Reduktion auch in der aliphatischen Reihe weitere Beiträge zu der Frage der Stickstoffassimilation in Pflanzen zu liefern. Inzwischen haben wir auf gleichem Wege die Umwandlung des Nitroäthans zu Äthylamin und des Nitromethans zu Methylamin bewerkstelligen können.

Obgleich die Konstitution der aliphatischen Nitrokörper,

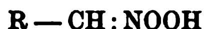


$$R - CH_2.NO_2,$$

vielleicht eine andere wie die der aromatischen ist — bevor-

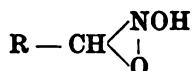
[1]) C. Neuberg und E. Welde, diese Zeitschr. 60, 472, 1914.

zugt man doch mit guten Gründen für die Salze der primären Nitrokörper der Fettreihe die Konstitution der Isonitrokörper oder Nitronsäuren



so zeigt sich immerhin, daß prinzipiell in beiden Reihen die phytochemische Reaktion gleichartig verläuft und daß während des Reduktionsvorganges die Kohlenstoff-Stickstoffbindung nicht gelöst wird. Ob und welche Zwischenstufen bei dieser Reaktion auftreten, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Übrigens setzt die Hantzsche Formulierung der Isonitrokörper



diese Substanzen in eine interessante Beziehung zu den Aldehyden, die ebenfalls recht glatt durch Hefe reduziert werden[1]).

Schließlich ist die sich offenbarende Analogie im Verhalten der Nitrokörper bei Pflanze und Tier bemerkenswert. So geht Nitrobenzol (E. Meyer) auch im Leibe des Hundes in Anilin über, das dann sekundär zu p-Amidophenol oxydiert und z. T. in gepaarter Form ausgeschieden wird[2]).

Experimenteller Teil.

Nachdem Vorversuche die qualitative Bildung von Amin aus Nitroäthan durch gärende Hefe ergeben hatten, wurde nunmehr ein größerer Ansatz in folgender Weise angestellt:

I.

500 g Rohrzucker wurden in 5 l Leitungswasser gelöst und 500 g obergärige Hefe (Rasse XII des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin) eingetragen. Nachdem die Flüssigkeit in lebhafte Gärung gekommen war, ließ man 20 g Nitromethan (Siedepunkt 113°) zufließen. Besondere Vorsichtsmaßregeln sind hierbei nicht nötig, da die Gärung nur in geringem Maße gehemmt wird und ihre vorherige Lebhaftigkeit sehr rasch wieder erlangt. Unter öfterem Umschütteln wurde der Gäransatz dann 2 Tage

[1]) Vgl. die beiden folgenden Mitteilungen.

[2]) Literatur über die Reduktion der Nitrokörper im tierischen Organismus siehe bei Neuberg, „Der Harn", S. 830.

bei gewöhnlicher und weitere 3 Tage bei Brutschranktemperatur sich selbst überlassen, wobei er sich allmählich rötlichgelb färbte.

Das auf Lackmus schwach sauer reagierende Gärgut wurde hierauf quantitativ in ein 12 l fassendes kupfernes Destillationsgefäß übergeführt, die gegen 6 l betragende Flüssigkeit mit 100 ccm 33 %iger Kalilauge bis zur bleibenden alkalischen Reaktion auf Phenolphthalein versetzt und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Der absteigende Kühler wurde durch ein Kugelrohr verlängert, das in 100 ccm n-Salzsäure eintauchte. Wir destillierten so lange, als das übergehende Destillat noch alkalisch reagierte, wobei etwa 1500 ccm Destillat erhalten wurden und die vorgelegte Säure nicht neutralisiert worden war.

Das Destillat wurde nunmehr im Vakuum oder auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, wobei eine weiße, krystallinische Masse zurückblieb. Diese wurde in heißem Alkohol gelöst, filtriert, wieder zur Trockne gedampft und dann mehrmals mit je 25 ccm absolutem Alkohol in der Kälte digeriert. Auf diese Weise war es möglich, das salzsaure Äthylamin ziemlich weitgehend vom Salmiak zu trennen, der dem aus der Hefe abgespaltenen und zugleich mit Äthylamin übergehenden Ammoniak entstammt. Der erste alkoholische Auszug hinterließ beim Verdampfen eine gelblich-weiße Masse, die bei Wasserbadtemperatur schmolz, beim Abkühlen in hygroskopischen Blättchen erstarrte und sich so schon äußerlich von Chlorammon unterschied. Freilich ließ sich so eine quantitative Trennung des salzsauren Amins vom Salmiak nicht erreichen.

Nach verschiedenen Versuchen, zu analysenreinen Substanzen zu gelangen, haben wir als sichersten und bequemsten Weg den über das Chloroplatinat gefunden. Zu diesem Zwecke wurde der 2,1 g betragende Rückstand des ersten und zweiten Alkoholextraktes in etwa 20 ccm Wasser gelöst, filtriert und mit einer konzentrierten Lösung von 8 g Platinchlorid unter Beigabe einiger Tropfen Salzsäure versetzt. Nach kurzem Stehen fielen beim Umrühren einige Milligramm typischen Platinsalmiaks aus, die nach einigen Stunden abfiltriert wurden. Beim Einengen des Filtrats krystallisierte das goldgelbe Platinat des Amins aus, das nach Verdünnen mit etwas Alkohol abgesaugt und mit Alkohol und Äther ausgewaschen wurde.

Das rohe Chloroplatinat wurde zur Analyse aus heißem Wasser umkrystallisiert, worin es zum Unterschied vom Ammoniumplatinchlorid leicht löslich war. Die Analyse ergab, daß platinchlorwasserstoffsaures Äthylamin in nahezu völliger Reinheit vorlag.

1. 0,1658 g Subst. gaben 0,0650 g Pt,

2. 0,1591 g „ „ 0,0632 g Pt und 0,2726 g AgCl.

$C_4H_{16}N_2PtCl_6$: Ber.: Pt = 39,00%; Cl = 42,60%;
gef.: Pt = 39,20%, 39,68%; Cl = 42,43%.

Die Ausbeute an rohem salzsaurem Äthylamin betrug rund 3 g, indem die nachfolgenden Auszüge fast noch 1 g alkohollöslichen Chlorids lieferten. Der Gehalt an letzterem kann leicht durch die Geruchsprobe beim Erwärmen mit Alkali und durch die Isonitrilreaktion erkannt werden. Außerdem gab das Chlorid — zum Unterschied von Chlorammonium — in beträchtlicher Verdünnung mit Triketohydrindenhydrat bei Gegenwart einer Spur Dinatriumphosphat oder Borax beim Kochen eine intensive Blauviolettfärbung, wie dies Neuberg für Amine beschrieben hat[1]).

Ob ein Teil des Nitroäthans, das nach verschiedenen Richtungen umgewandelt werden könnte, in anderer Weise von der Hefe verarbeitet wird, bleibt unentschieden. Eine besondere Abtrennung etwa unveränderten Nitroäthans ist bei der geschilderten Verarbeitung auf Chlorid und Chlorplatinat unnötig. Bei der Flüchtigkeit dürfte unverändertes Nitroäthan beim Einengen der verdünnten salzsauren Lösung mit den Dämpfen entfernt werden.

II.

Ein zweiter größerer Versuch wurde mit derselben Menge Rohrzuckerlösung und Hefe angesetzt, aber nur 10 g Nitroäthan zugegeben. Die Verarbeitung und die Isolierung des Amins geschah in genau der gleichen Weise, wie bei Versuch 1 beschrieben.

Auch hier gelang die Isolierung des salzsauren Äthylamins sowie die Darstellung von analysenreinem Chloroplatinat:

0,1202 g Subst. gaben 0,0466 g Pt.
Ber.: Pt = 39,00%; gef.: Pt = 38,82%.

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 56, 500, 1913.

III.

Um festzustellen, ob die Reduktion des Nitroäthans zu Aminoäthan eine Leistung der lebenden Hefezelle ist, wurde ein Versuch mit abgetöteter Hefe vorgenommen.

Zu diesem Zwecke wurden 500 g Rohrzucker in 2300 ccm Leitungswasser gelöst, mit 100 ccm n-Schwefelsäure versetzt und 1 Stunde zur Inversion auf dem Wasserbade erhitzt. Dann wurden 100 ccm n-Natronlauge zugegeben und die heiße Lösung zu einer Abkochung von 500 g Hefe XII in 2500 ccm Leitungswasser zugefügt. Nach dem Abkühlen wurden 10 ccm Nitroäthan zugesetzt und das Gemisch wie bei Versuch I 5 Tage teils bei Zimmer-, teils bei Brutschranktemperatur sich selbst überlassen, und dann aus der alkalischen Lösung mit Wasserdampf destilliert.

Die weitere Verarbeitung erfolgt genau wie bei den eben beschriebenen Versuchen. Trotzdem konnte keine greifbare Menge Äthylamin bzw. seines Chloroplatinats isoliert werden. Auch die Isonitrilprobe und die Reaktion mit Triketohydrindenhydrat verliefen negativ. Nur die Geruchsprobe mit Alkali ergab die Anwesenheit von Spuren eines aminartigen Produktes.

Nach dem Ausfall dieser Kontrolle kann die Reduktion also als eine Wirkung der arbeitenden Hefezelle bezeichnet werden.

Eine Chlorbestimmung des festen Rückstandes des ersten Alkoholextraktes zeigte außerdem, daß annähernd reiner Salmiak vorlag:

0,2663 g Subst. verbr. 48,5 ccm $^{n}/_{10}$-$AgNO_3$.

Ber. für NH_4Cl: Cl = 66,36 %; gef.: 64,67 % Cl.

(„ „ $C_2H_5NH_2 . HCl$: Cl = 43,56 %.)

Reduktion von Nitromethan zu Methylamin.

IV.

In einer 10-l-Flasche wurden 500 g Rohrzucker in 5 l Leitungswasser gelöst und 500 g obergärige Hefe (Rasse XII) eingetragen. In die lebhaft gärende Flüssigkeit wurden 20 g Nitromethan (Sdp. 101°) zufließen lassen. Die Gärung wurde auch hier nur wenig und nur vorübergehend gehemmt. Nach 5tägigem Stehenlassen bei Zimmer- und Brutschranktemperatur erfolgte die weitere Verarbeitung genau, wie bei den Nitromethan-

ansätzen beschrieben, durch Wasserdampfdestillation aus alkalischer Lösung. Die übergehende Flüssigkeit wurde in vorgelegter verdünnter Salzsäure aufgefangen. Das salzsaure Destillat wurde zur Trockne gedampft, die zurückbleibende Krystallmasse in wenig Wasser aufgenommen, die etwas dunkel gefärbte und schwach getrübte Flüssigkeit mit Tierkohle entfärbt und das Filtrat nochmals eingedunstet. Auf diese Weise wurde ein rein weißer Rückstand erhalten. Durch Digerieren mit kleinen Mengen kalten absoluten Alkohols konnte das salzsaure Methylamin nicht angenähert vom Salmiak getrennt werden. Zur quantitativen Scheidung wurde wieder die Verarbeitung auf das Chloroplatinat herangezogen. Auch die Trennung des Chloroplatinats von Platinsalmiak vollzieht sich hier nicht so glatt wie beim Äthylamin. Denn einmal sind sehr viel größere Mengen Platinsalmiaks zugegen, und andererseits bewegt sich die Differenz in der Löslichkeit des letzteren und der des platinchlorwasserstoffsauren Amins in engeren Grenzen.

Immerhin gelang auch hier die Darstellung analysenreinen Methylaminchloroplatinats, das in großen blaßgelben Blättchen krystallisierte.

1. 0,3552 g Subst. gaben 0,1478 g Pt,
2. 0,2236 g „ „ 0,0931 g Pt und 0,4083 g AgCl.

$C_2H_{12}N_2PtCl_6$: Ber.: Pt = 41,32 %; Cl = 45,13 %;
gef.: Pt = 41,61 %, 41,64 %; Cl = 45,16 %.

Wegen der verlustreichen Trennungsmethode können keine genauen Daten für die Ausbeute angegeben werden. 0,9 g analysenreines Platinat wurden isoliert, jedoch waren in den weiteren alkoholischen Extrakten noch weitere Mengen von salzsaurem Methylamin durch die qualitativen Reaktionen nachzuweisen.

V.

Zur Kontrolle wurde hier ebenfalls ein Versuch mit abgetöteter Hefe vorgenommen, der völlig in Verarbeitung und Resultat dem Versuch III entsprach.

Zwar waren auch hier durch die Geruchsprobe beim Erwärmen mit Alkali Spuren von Amin zu erkennen, doch fielen alle anderen Proben negativ aus. Die Kontrolle durch Bestimmung des Chlorgehaltes im Rückstande der ersten alko-

holischen Extraktion läßt ebenfalls erkennen, daß hier fast reines Chlorammonium vorhanden war.

0,1094 g Subst. verbr. 19,8 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$.

Ber. für NH_4Cl: Cl = 66,36 %; gef.: Cl = 64,25 %.

(„ „ $CH_3NH_2 . HCl$: Cl = 52,60 %.)

Die phytochemische Reduktion der Nitrogruppe ist nach diesen Untersuchungen auch in der aliphatischen Reihe möglich und führt zu den entsprechenden Aminen. Die bisherigen Ergebnisse ermutigen zu Experimenten über ähnliche Bildungsweisen von Aminosäuren.

Phytochemische Reduktionen. III.

Umwandlungen aromatischer und fettaromatischer Aldehyde in Alkohole.

Von

Carl Neuberg und Ernst Welde.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem.)

Im Vergleich mit den zahlreich zutage tretenden exothermen Reaktionen der lebenden Zelle sind nur wenige endothermer Natur bekannt. Zu diesen dürfen wir wohl die Mehrzahl der Reduktionsprozesse in der Pflanze rechnen, und da sie es sind, die in letzter Linie den Bestand des Lebens auf Erden vermitteln, so besitzen sie ein besonderes Interesse.

Der Reduktion unterworfen dürften in erster Linie, soweit es sich um stickstofffreies Material handelt, jene reaktionsfähigen Produkte werden, die bei der Photosynthese oder beim Abbau komplizierter Moleküle auftreten, d. h. die Carbonylverbindungen, insbesondere die Aldehyde.

In der aliphatischen Reihe ist für eine Anzahl von Vertretern der Aldehyde die Reduzierbarkeit durch einfache Pflanzenzellen, wie Hefen, erwiesen, so für den Acet-, Propion-, Isopropylaldehyd, die Valeraldehyde sowie für das Önanthol (Neuberg und Mitarbeiter). Auch für einen heterozyklischen Aldehyd, für das Furfurol, ist der Übergang in den entsprechenden Alkohol von Lintner und von v. Liebig sichergestellt. Dagegen fehlt es an systematischen Untersuchungen über das einschlägige Verhalten aromatischer und fettaromatischer Aldehyde.

Wir haben unsere Versuche mit den beiden einfachsten Vertretern dieser Gruppen, dem Benzaldehyd und dem Phenylacetaldehyd begonnen. Eine besondere Beachtung

können die beiden bei der Reduktion entstehenden Alkohole auch schon darum beanspruchen, weil sie in der Natur verschiedentlich vorkommen.

Die Methodik entspricht den bei den Aldehyden der aliphatischen Reihe erprobten Versuchsbedingungen.

Bei beiden genannten Aldehyden ist uns die biochemische Umwandlung in die entsprechenden Alkohole, den Benzylalkohol und den Phenyläthylalkohol, gelungen.

Experimenteller Teil.

Umwandlung von Benzaldehyd durch Hefe in Benzylalkohol.

I.

In zwei 5-l-Flaschen wurden je 250 g Rohrzucker in 2500 ccm Leitungswasser gelöst und je 250 g obergärige Hefe (Rasse XII des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin) eingetragen. Die Flaschen wurden dann mit einem zweifach durchbohrten Gummistopfen verschlossen, dessen eine Bohrung ein schleifenförmig gebogenes Glasrohr mit Wasserabschluß, die andere einen kleinen Tropftrichter trug.

Durch letzteren wurden, sobald die Gärung lebhaft geworden war, 11 g frisch destillierter Benzaldehyd (Siedepunkt 179^{0}) langsam unter häufigem Umschwenken der Flasche eintropfen gelassen. Die Gärung wurde hierbei nur wenig und nur vorübergehend gehemmt. Nach 5tägigem Verweilen an einem ca. 25^{0} warmem Orte war der Geruch nach Benzaldehyd fast völlig verschwunden.

Der Inhalt jeder Flasche wurde nun in einen kupfernen Destillationskessel übergeführt und mit Wasserdampf destilliert, bis das Destillat ungefähr 1500 ccm betrug. Diese wurden mehrmals ausgeäthert, die aus beiden Ansätzen vereinigten ätherischen Auszüge dann mit wässeriger Natriumbisulfitlösung geschüttelt (zur Entfernung von etwa unverändertem Benzaldehyd), mit Wasser gewaschen und über frisch geglühtem Glaubersalz getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde der gelbe ölige Rückstand mit absolutem Äther aufgenommen, nochmals über entwässertem Kupfersulfat scharf getrocknet und dann aus einem kleinen Fraktionierkölbchen destilliert. Nachdem der Äther und geringe Mengen des bei

der Gärung entstandenen Äthylalkohols übergegangen waren, stieg das Thermometer bei weiterem Erhitzen rasch bis über 200°, wobei nur wenige Tropfen undefinierter Produkte (1 Tropfen Amylalkohol) übergingen. Von 202 bis 206° destillierten dann 4,8 g einer gelblich gefärbten Flüssigkeit über, und nur ein ganz geringer dunkler zersetzter Rückstand blieb im Fraktionierkölbchen zurück.

Zur Analyse wurde die erhaltene Flüssigkeit nochmals destilliert, wobei die Hauptmenge als helles, lichtbrechendes Öl bei 205 bis 206° konstant überging.

0,1101 g Subst. gaben: 0,3130 g CO_2 und 0,0734 g H_2O;
0,1698 g „ „ 0,4838 g CO_2 „ 0,1119 g H_2O.

C_7H_8O: Ber.: C = 77,78%; H = 7,41%;
gef.: C = 77,66%; H = 7,40%,
„ C = 77,60%; H = 7,32%.

Von 22 g Benzaldehyd waren also 4,8 g Benzyalkohol isoliert worden, was einer Ausbeute von 22% entspricht.

II.

Zur Untersuchung, ob auch Hefen anderer Rassen die Reduktion des Benzaldehyds zu Benzylalkohol bewerkstelligen, wurden in zwei weiteren Ansätzen je 400 g Rohrzucker in 4000 ccm Leitungswasser mit je 400 g untergäriger Hefe (Rasse K des Instituts für Gärungsgewerbe) zur Gärung gebracht und je 17,6 g Benzaldehyd zugesetzt. Die Verarbeitung erfolgte genau wie bei dem vorigen Versuch.

Erhalten wurden 9,5 g Benzylalkohol (Siedepunkt 203 bis 206° g) entsprechend 27% der theoretisch möglichen Menge.

III.

Um Anhaltspunkte zu gewinnen hinsichtlich der Frage, ob die Bildung des Benzylalkohols aus Benzaldehyd nicht auf einer Cannizzaroschen Reaktion beruhe, d. h. ob nicht ebensoviel Benzaldehyd zu Benzylalkohol reduziert, wie zu Benzoesäure gleichzeitig oxydiert würde, bestimmten wir in einem dritten Versuch neben der Menge des entstandenen Benzylalkohols auch die Quantität der gebildeten Benzoesäure.

Zwei Ansätze mit je 500 g Rohrzucker, 5 l Leitungswasser und 500 g Hefe XII wurden mit je 22 g Benzaldehyd versetzt,

5 Tage stehen gelassen und dann unter Zugabe von 50 ccm 20 %iger Phosphorsäure der Wasserdampfdestillation unterworfen. Die ausgeätherten Destillate wurden alkalisch gemacht und auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, der weiße Rückstand mit wenig heißem Wasser aufgenommen, filtriert, mit Schwefelsäure angesäuert und erschöpfend ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Äthers hinterblieb nur eine geringe Menge eines gelblichen, stechend riechenden Öls, das allmählich erstarrte und, aus Wasser umkrystallisiert, rein weiße, glänzende Blättchen bildete, die bei 120° schmolzen. Im ganzen konnten aus beiden Ansätzen nur 0,2 g Benzoesäure isoliert werden, während 14,0 g Benzylalkohol (gleich 32 % der erreichbaren Menge) bei diesem Versuche erhalten wurden. In freier Form bzw. als einfaches Salz konnten wir also keine Benzoesäure auffinden; ob vielleicht solche in gepaarter Form auftritt, ist noch nicht untersucht.

Umwandlung von Phenylacetaldehyd durch Hefe in Phenyläthylalkohol.

Bei den ersten Ansätzen, bei denen Hefe in Rohrzuckerlösung mit Phenylacetaldehyd versetzt wurde, hatten wir Mißerfolge, indem der Aldehyd sich alsbald in dem Gärgut zersetzte und sich ein dicker gelber Bodensatz bildete. Da die Hefenflüssigkeit sauer reagierte, so ist wohl die Acidität an der Zersetzung schuld; denn Phenylacetaldehyd ist gegen Säuren sehr empfindlich. Wir haben daraufhin den Aldehyd durch Zugabe der berechneten Menge Ammoniak in seine Ammonverbindung übergeführt und die Versuche in folgender Weise angesetzt:

IV.

250 g Rohrzucker, gelöst in 2500 ccm Wasser, wurden mit 250 g frischer Unterhefe K in Gärung versetzt. Unter den üblichen Kautelen wurden 12 g Phenylacetaldehyd + 150 ccm n-Ammoniak sehr langsam hinzugesetzt. Die zunächst bei Zimmertemperatur aufbewahrte Mischung (3 Tage) wurde dann in den Brutschrank gesetzt. Dabei trat Gelbfärbung, aber keine starke Bildung eines Niederschlags von zersetztem Aldehyd auf. Nach 4 Tagen wurde destilliert und die weitere Verarbeitung wie beim Benzaldehyd (in Versuch 1) ausgeführt.

Derselbe Versuch war gleichzeitig noch einmal angesetzt worden.

Die letzten Ätherauszüge wurden vereint und gemeinsam auf Phenyläthylalkohol verarbeitet. Dabei wurden insgesamt 7,8 g Phenyläthylalkohol vom Siedepunkt 218° isoliert.

V.

Wie bereits erwähnt worden ist, hängt die Ausbeute sehr wesentlich von der Reaktion des Gärungsgemisches ab. Tatsächlich konnten wir die Ausbeute etwas verbessern, indem wir durch Beigabe von Calciumcarbonat für möglichste Neutralität sorgten.

Es wurden zwei gleiche Ansätze mit folgenden Mengenverhältnissen angesetzt:

250 g Rohrzucker, 2500 g Leitungswasser, 250 g Hefe XII, 12 g Phenylacetaldehyd, gelöst in einem Gemisch von 30 ccm absolutem Alkohol + 7 ccm 25%igem Ammoniak, sowie 50 g Calciumcarbonat.

Die gemeinsame Aufarbeitung ergab 8,5 g Phenyläthylalkohol vom Siedepunkt 218 bis 219°.

Für die Analyse wurde dieses Quantum noch einmal destilliert. Der erhaltene n-Phenyläthylalkohol war ein wenig gelb, doch von charakteristischem Geruch.

0,1504 g Substanz: 0,4354 CO_2 und 0,1107 H_2O.

$C_8H_{10}O$: Ber.: C = 78,69; H = 8,20;

gef.: C = 78,98; H = 8,20.

Damit ist die Bildung des n-Phenyläthylalkohols erwiesen.

Phytochemische Reduktionen. IV.

a) Über die Bildung von n-Amylalkohol durch Hefe.

b) Beobachtung über natürliches Vorkommen von n-Amylalkohol.

Von

C. Neuberg und F. F. Nord.

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem.)

a)

Während Substanzen mit verzweigten Amylresten in der Natur weitverbreitet sind, liegen nur ganz spärliche Angaben über das Vorkommen von Abkömmlingen der n-Amylgruppe vor. Sie betreffen das Vorkommen von n-Valeriansäure. Dabei muß man zwischen der Entstehung durch Auf- oder Umbau aus N-freiem Material und der Bildung durch Abbau von stickstoffhaltiger Substanz unterscheiden. Die erste Entstehungsweise ist anzunehmen bei dem Auftreten von n-Valeriansäure bei der Einwirkung des in den Askaridenwürmern[1]) enthaltenen Ferments auf Kohlenhydrate sowie bei der Produktion derselben Säure durch Entwicklung eines unbekannten Aussaatmaterials von Spaltpilzen auf Calciumlactatlösung[2]). Um die zweite Bildungsweise handelt es sich bei der Entstehung von n-Valeriansäure bei der gewöhnlichen Fäulnis der Aminosäure Prolin[3]).

Es war daher von Interesse, zu untersuchen, ob dies seltene Vorkommen von n-Pentanderivaten in der Natur mit einer geringen Neigung der n-Amylgruppe zu Umsetzungen in den Vegetabilien zusammenhängt.

---

[1]) E. Weinland, Zeitschr. f. Biol. 43, 86, 1902.

[2]) Alb. Fitz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 14, 1084, 1881.

[3]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 37, 490, 1911.

Zur Prüfung dieser Frage wählten wir als geeigneten pflanzlichen Organismus die Hefe, indem wir ihr Verhalten zu n-Valeraldehyd einer näheren Prüfung unterzogen.

Durch frühere Versuche von Neuberg und Steenbock ist festgestellt, daß der Isovaleraldehyd wie der optisch-aktive Methyläthylacetaldehyd durch gärende Hefen in die entsprechenden Amylalkohole umgewandelt werden.

Es hat sich nun gezeigt, daß der n-Valeraldehyd mit besonderer Leichtigkeit die gleiche Umwandlung durch arbeitende Hefen erfährt.

Die unten mitzuteilenden Daten lassen erkennen, daß rund 70% der theoretisch möglichen Menge n-Amylalkohol isoliert werden konnten.

Dieser Umstand zeigt, daß es sich bei diesem Vorgange um einen richtigen Reduktionsprozeß handelt und nicht um eine Verwirklichung der Cannizzaroschen Reaktion, die eine nicht unerheblich geringere Ausbeute hätte ergeben müssen.

Daß der gebildete Amylalkohol tatsächlich der normale war, ging außer aus dem Siedepunkt auch aus der völligen optischen Inaktivität hervor.

Experimentelles.

Als Ausgangsmaterial diente reiner n-Valeraldehyd, den wir nach Lieben und Rossi[1]) aus n-valeriansaurem Kalk und Calciumformiat bereiteten und durch wiederholte sorgfältige Destillation mit Hilfe des Birektifikators reinigten.

Der verwendete Aldehyd siedete bei 102 bis 104°.

In zwei Ansätzen wurden je 13,5 ccm = 11,1 g n-Valeraldehyd zu einer in flotter Gärung befindlichen Mischung von 250 g Zucker in 2500 ccm Leitungswasser und 250 g obergäriger Hefe getropft. Die Gärung wurde dadurch fast zum Stillstand gebracht, doch trat nach Aufbewahrung im Brutschrank nach einigen Stunden Erholung ein, die sich in einer kontinuierlichen Kohlensäureentwicklung kundgab.

Als nach 4 Tagen der Geruch nach n-Valeraldehyd noch nicht vollkommen verschwunden schien, wurden noch 100 g von derselben Hefe sowie 100 g Zucker hinzugegeben. Die

[1]) A. Lieben und Rossi, Liebigs Annalen 158, 143; 159, 70.

Gärung setzte von neuem ein und wurde nach Ablauf am 6. Tage durch abermalige Zufügung von 50 g Zucker und 50 g Hefe von neuem entfacht.

Nach 8tägigem Stehen wurde das Gärgut beider Ansätze unter Nachspülen mit je 100 ccm Wasser in kupferne Destillierblasen übergespült und der Destillation mit Wasserdampf unterworfen.

Es wurden 1400 ccm Flüssigkeit übergetrieben und diese einer erneuten direkten Destillation unterworfen, wobei 950 ccm aufgefangen wurden. Dieses Destillat wurde gründlich mit je 300 ccm Äther ausgeschüttelt und der Destillationsrückstand ebenfalls 2 mal mit Äther ausgezogen.

Die ätherischen Auszüge wurden am Wasserbad vorsichtig abdestilliert[1]) und das zurückbleibende Gemisch alsdann über frisch geglühtem Glaubersalz getrocknet. Nach Filtration vom Natriumsulfat und Auswaschen mit absolutem Äther wurde die Lösung langsam am Birektifikator konzentriert und zur Entfernung der letzten Reste Wasser über entwässertem Kupfersulfat während 24 Stunden getrocknet.

Nunmehr wurden die Produkte der bisher getrennt verarbeiteten Gäransätze vereinigt.

Durch Filtration wurde vom Kupfersulfat, das sich deutlich blau gefärbt hatte, abgetrennt, der Rückstand mit wasserfreiem Äther ausgewaschen und die ätherische Lösung am Birektifikator abdestilliert.

Nach dem Absieden des Äthers ging scharf bei 78° eine Quantität Alkohol über, worauf das Thermometer ohne Verzögerung unmittelbar auf 134° stieg.

Die erste Kondensationsspirale des Birektifikators wurde alsdann mit Watte umhüllt und die Destillation beendigt.

Zwischen 134° und 140° ging fast der gesamte Rest über als ganz schwach gelb gefärbtes Liquidum, das ähnlich wie gewöhnlicher Amylalkohol roch.

Diese Hauptfraktion wog 15,5 g.

Als Nachlauf folgte weniger als 1 g einer gelben Flüssigkeit, die völlig unscharf zwischen 140° und 170° siedete und saure Reaktion zeigte.

---

[1]) Der übergehende Äther diente jeweils zur erneuten Ausschüttelung.

Im Destillationskolben blieben Spuren eines schwarzbraunen, sich zersetzenden Öles zurück.

Die Hauptfraktion wurde einer erneuten Rektifikation unterworfen, die nahezu 15 g einer einheitlich zwischen 134° und 137° siedenden Flüssigkeit gab.

Die Analyse zeigte, daß reiner n-Amylalkohol vorlag.

0,1520 g Substanz gaben:

$$0{,}3791 \text{ g } CO_2 \text{ und } 0{,}1859 \text{ g } H_2O.$$

$$C_5H_{11}.OH. \quad \text{Ber.: } C = 68{,}18; \; H = 13{,}64\,\%;$$
$$\text{gef.: } C = 68{,}02; \; H = 13{,}59\,\%.$$

Die optische Kontrolle ergab das Fehlen jeglichen Drehungsvermögens[1]).

Damit ist die außerordentlich glatte phytochemische Bildung von n-Amylalkohol erwiesen.

b)

Die Fähigkeit der Hefe, n-Amylderivate zu verarbeiten, führt zu dem Gedanken, auf ein natürliches Vorkommen normaler Pentanderivate mehr zu achten, als das bisher geschehen ist.

Es lag nahe, in der Hauptfundgrube von Amylderivaten, im Fuselöl, nach einem Gehalt an n-Amylalkohol zu fahnden, und es ist uns gelungen, für ein Fuselöl aus Melasse mit großer Sicherheit einen kleinen Gehalt an n-Amylalkohol nachzuweisen.

Der Gang der Untersuchung war folgender: 2,5 kg Melasse-Fuselöl wurden zunächst über geglühtem Glaubersalz weitgehend getrocknet und dann an einem 8 kugeligen Birektifikator sehr langsam und sorgfältig abdestilliert.

Es wurde außer acht gelassen, was bis 128° überging, und dann als Hauptfraktion rund 1,5 kg Gärungsamylalkohol vom Siedepunkt 128 bis 135° aufgefangen.

Alsdann ging bei sehr langsamer Destillation — die ganze Fraktionierung der 2,5 kg Fuselöl dauerte 4 Tage — eine kleine Fraktion vom Siedepunkt 135 bis 145° über. Dieselbe war schwach bläulich gefärbt infolge eines Gehalts an Kupferverbindungen, die von basischen Bestandteilen des Fuselöls aus

---

[1]) Jene Spur Gärungsamylalkohol, die bei der normalen Zuckervergärung entsteht, ist ohne Einfluß auf dieses Ergebnis, da unter den gewählten Bedingungen kaum ein Tropfen auftritt.

dem kupfernen Kühler herausgelöst waren. Die Menge der genannten Fraktion belief sich auf 22 ccm. Dieselben wurden in einem kleinen Scheidetrichter 3 mal mit einigen Kubikzentimetern verdünnter Schwefelsäure durchgeschüttelt, dann mit etwas Wasser gewaschen und über geglühtem Natriumsulfat getrocknet.

Die erneute Fraktionierung an einem kleinen Birektifikator ergab 7,5 g Substanz vom Siedepunkt 134 bis 139°.

Diese Substanz roch nach Amylalkohol und wurde zunächst auf ihr polarimetrisches Verhalten untersucht.

Im 1-dcm-Rohr betrug die Drehung — 0,25°. Woraus sich eine spezifische Drehung von

$$[\alpha]_D = -0{,}308^\circ$$
$$(l = 1,\ d = 0{,}81,\ p = 100)$$

berechnet.

Die Hauptfraktion vom Siedepunkt 128 bis 135° hatte die spezifische Drehung[1])

$$[\alpha]_D = -1{,}73^\circ$$
$$(\alpha = -2{,}80^\circ,\ l = 2,\ d = 0{,}81,\ p = 100)$$

gezeigt.

Der Vergleich lehrt ohne weiteres, daß hier eine Beimischung von wenig aktivem Amylalkohol zu einem im wesentlichen inaktiven Bestandteil vorliegt, der nach der Höhe seines Siedepunktes nicht Isobutylcarbinol sein kann.

Da bei der kleinen Menge eine weitere Reinigung aussichtslos erschien, so haben wir zur Erkenntnis der Zusammensetzung die Oxydation zur entsprechenden Valeriansäure nach der trefflichen Vorschrift von W. Marckwald[2]) vorgenommen.

Zu diesem Zwecke wurden 5 g des Amylalkoholgemisches langsam in eine Lösung von 13 g Kaliumbichromat und 17,5 g konz. Schwefelsäure in 165 ccm Wasser eingetropft und einige Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt.

Alsdann wurde am Rückflußkühler bis zur völligen Reduktion der Chromsäure schnell erwärmt. Nunmehr wurde das Gemisch destilliert und das Destillat, das neben Valeriansäure auch valeriansaures Amyl enthielt, mit Kalilauge ge-

---

[1]) d. h. es handelt sich um einen Amylalkohol, der etwa 30% aktiven Alkohol enthielt.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 1045, 1904.

kocht. Nach Konzentration auf ein kleines Volumen wurde durch Zusatz von Schwefelsäure die Valeriansäure abgeschieden, mit Äther aufgenommen und nach Trocknen über entwässertem Natriumsulfat destilliert.

Die Menge der erhaltenen Säure betrug 2,2 g, der Siedepunkt lag gegen 181°, erreichte also nicht ganz die Höhe des Kochpunktes von reiner n-Valeriansäure, der zu 185 bis 186° angegeben wird.

Zur weiteren Identifizierung bedienten wir uns der Überführung in das Calciumsalz.

Bekanntlich unterscheiden sich die Kalksalze der drei in Betracht kommenden Valeriansäuren durch ihren Krystallwassergehalt.

Das Kalksalz der Methyläthylessigsäure krystallisiert bei niedriger Temperatur mit 5 Molekülen Wasser, das der Isopropylessigsäure mit 3 Molekülen und das der n-Valeriansäure mit 1 Molekül Krystallwasser.

Durch viermaliges Umkrystallisieren erhielten wir fast 2 g eines Salzes von der Zusammensetzung:



$$(C_5H_9O_2)_2Ca + 1\,H_2O.$$

Die Analysen stimmen befriedigend.

Kalkbestimmung:

0,3018 g Substanz gaben 0,0637 g CaO.
Gef.: 15,07 % Ca
Ber.: 15,37 % Ca.

Wasserbestimmung:

0,2851 g Substanz gaben 0,0187 g Wasserverlust bei 120°.
Gef.: 6,56 % H_2O.
Ber.: 6,92 % H_2O.

Die Diagnose auf n-Valeriansäure wird gesichert durch das polarimetrische Verhalten, indem eine Lösung von 0,1963 g des Salzes in 10 ccm Wasser in 20 cm langer Schicht nicht die geringste Drehung aufwies.

Die Herkunft der Amylalkohole des Fuselöls ist durch die Untersuchungen von F. Ehrlich aufgeklärt, der als Muttersubstanz des Isoamylalkohols das Leucin, und als Muttersubstanz des optisch aktiven Amylalkohols das Isoleucin erkannt hat.

Als Quelle des n-Amylalkohols hätte man entsprechend die n-Aminocapronsäure zu betrachten, deren Vorkommen als Baustein der Eiweißkörper des öfteren behauptet war, aber erst durch neuere Untersuchungen von E. Abderhalden und A. Weil[1]) wirklich nachgewiesen ist.

Da sich diese Verbindung, das Norleucin, nur in geringem Umfange am Aufbau der Proteine zu beteiligen scheint, so ist es nicht verwunderlich, daß sie auch den Gärungsamylalkohol nur in sehr kleiner Menge bereitet.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 84, 39, 1913; 88, 272, 1913.

Über zuckerfreie Hefegärungen. XVI.

Zur Frage der Bildung von Milchsäure bei der Vergärung von Brenztraubensäure durch lebende Hefen nebst Bemerkungen über die Gärungsvorgänge.

Von

C. Neuberg und Joh. Kerb.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

Im Verlaufe der mannigfachen Untersuchungen über das Verhalten der Brenztraubensäure, die während der letzten Jahre im hiesigen Laboratorium ausgeführt worden sind, ist mehrfach die Frage aufgetaucht, ob bei Einwirkung von Hefen auf Brenztraubensäure neben ihrer Spaltung auch eine Reduktion zu Milchsäure einherlaufen könne, d. h. ob die zuckerfreie Gärung ähnlich der normalen gelegentlich von einer Bildung von Milchsäure begleitet wäre.

Eine solche Möglichkeit schien zunächst bis zu gewissem Grade zu bestehen.

Einerseits wurden die den Ketosäuren entsprechenden Aldehyde [Acetaldehyd[1]), Propionaldehyd[2]), Isobutylaldehyd[3]), die Valeraldehyde[4]), Önanthol[5]) usw.] durch Hefe reduziert.

Andererseits ist auch als einer der vorhandenen Umbauwege der Brenztraubensäure im Tierkörper, die von den ver-

[1]) Vgl. C. Neuberg und J. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 114, 1912. — S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 79, 130, 1912; 83, 93, 1913. — A. v. Lebedew, diese Zeitschr. 46, 483, 1912; Ber. 46, 850, 1913.

[2]) C. Neuberg und J. Kerb, diese Zeitschr. 61, 184, 1914.

[3]) K. Ohta, diese Zeitschr. 59, 183, 1913.

[4]) C. Neuberg und H. Steenbock, diese Zeitschr. 52, 494, 1913; 59, 188, 1913. — C. Neuberg und F. F. Nord, 62, 482, 1914.

[5]) K. Ohta, l. c.

schiedensten Gesichtspunkten G. Embden und Mitarbeiter[1]), sowie P. Mayer[2]) und Tschernorutzky[3]) erforscht haben, eine Reduktion von Brenztraubensäure zu Milchsäure von P. Mayer[4]) sowie Embden und Oppenheimer[5]) festgestellt worden.

Nun wird bekanntlich bei der Vergärung des Zuckers durch lebende und bacillenfreie Hefen keine Milchsäure gebildet.

Falls die Brenztraubensäure eine Zwischenstufe beim Abbau des Zuckers durch Hefen darstellt, so war zu erwarten, daß sie dem Zucker sich analog verhalten, d. h. mit lebenden Hefen ohne Bildung von Milchsäure als Nebenprodukt vergären würde.

Eine Reihe von Versuchen im kleinen, die stets mit Reinzuchthefen unter möglichster Antisepsis angestellt waren, hat negative Resultate ergeben, wenn eine Infektion sicher vermieden war.

Wir wollen genauer einen Versuch im großen beschreiben, der sich mehr den Verhältnissen im Betriebe nähert.

Als Untersuchungsobjekt dienten die Ansätze mit sehr großen Mengen Brenztraubensäure und Hefe II, die wir im letzten Jahre ausführlich bei Gelegenheit unserer Versuche über die Bildung von Alkohol bei der Brenztraubensäuregärung beschrieben haben[6]).

Die nach dem Abdestillieren des Alkohols verbliebenen Rückstände[7]) der Ansätze 1 und 4 (102 l H_2O + 22 kg Hefe, sowie 101 l H_2O + 1 kg Brenztraubensäure + 22 kg Hefe) dienten zur Prüfung auf Milchsäure. Hierzu wurde jeweils ein aliquoter Teil verwendet, der den 100. Teil des ursprünglichen Ansatzes ausmachte und samt der möglichst gleichmäßig verteilten Hefe verarbeitet wurde. Die Milchsäurebestimmungen

---

[1]) G. Embden und E. Schmitz, diese Zeitschr. 38, 393, 1912. — G. Embden und M. Oppenheimer, ebenda 45, 186, 1912.

[2]) P. Mayer, diese Zeitschr. 40, 441, 1912.

[3]) M. Tschernorutzky, diese Zeitschr. 43, 486, 1912.

[4]) P. Mayer, diese Zeitschr. 40, 444, 1912; 49, 500, 1913; 55, 8, 1913.

[5]) G. Embden und M. Oppenheimer, diese Zeitschr. 55, 335, 1913.

[6]) C. Neuberg und J. Kerb, Ber. 46, 2225, 1913; diese Zeitschr. 53, 406, 1913.

[7]) Sie waren nach der Dampfdestillation steril und wurden unter Zusatz von reichlich Chloroform und Toluol für spätere Versuche aufbewahrt.

geschahen nach zwei Methoden, einmal nach dem Verfahren von Buchner und Meisenheimer[1]), und das andere Mal nach der Vorschrift, die Neubauer im „Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden“[2]) nach Angaben von Embden mitteilt. In beiden Fällen wurde die Ergänzung berücksichtigt, die bei Anwesenheit von Brenztraubensäure nach Embden und Oppenheimer[3]) erforderlich ist. Nach beiden Verfahren wurde übereinstimmend weder im Ansatz mit Brenztraubensäure noch in dem ohne Brenztraubensäure Milchsäure ermittelt.

Diese negativen Ergebnisse bei Versuchen mit lebenden Hefen und freier Brenztraubensäure würden mit den theoretischen Erwägungen über die Stellung der Carboxylasegärung der Brenztraubensäure zur allgemeinen Zuckervergärung sich im Einklange befinden. Sie würden auch mit der Angabe von M. Oppenheimer[4]) übereinstimmen, daß zu Macerationssaft hinzugefügtes brenztraubensaures Natrium keine Bildung von Milchsäure zur Folge hat. Allerdings muß es zweifelhaft erscheinen, ob die Anwendung der Brenztraubensäure als Alkalisalz empfehlenswert ist. Denn durch die Carboxylasewirkung findet eine starke Änderung in der Reaktion des Milieus statt. Es tritt nämlich deutlich alkalische Reaktion ein[5]). Eine Beigabe von Kreide[6]) zu dem Natriumsalz dürfte daran nicht viel ändern. Hier sind neue Versuche mit freier oder mindestens mit gepufferter Brenztraubensäure nötig, bevor entschieden ist, ob nicht bei der zellfreien Gärung von Brenztraubensäure doch Milchsäure gebildet werden kann.

Für solche Zwecke dürfte übrigens der eigentliche Buchnersche Hefepreßsaft dem Macerationssafte überlegen sein. Denn es ist viel leichter, ein aseptisches oder bakterienarmes Produkt zu erhalten, wenn man von steriler Hefe ausgeht, als bei Benutzung der käuflichen Trockenhefe.

In diesem Punkte weichen unsere mehrjährigen Erfahrungen

---

[1]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. 37, 417, 1904; 43, 1784, 1910.

[2]) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden V, 1252, 1911.

[3]) G. Embden und M. Oppenheimer, diese Zeitschr. 55, 339, 1913.

[4]) M. Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 58, 1914.

[5]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 36, 68, 1911.

[6]) M. Oppenheimer, l. c. S. 59.

mit dem Macerationssaft weit von der jüngst gemachten Angabe M. Oppenheimers[1]) ab.

In jeder bisher geprüften Probe von Münchener Trockenhefe (Schroder), wie sie zur Darstellung von Macerationssaft abgegeben wird, hat die bakteriologische Kontrolle eine mehr oder minder erhebliche Infektion mit verschiedenen Keimen aufgewiesen. Das ist bei der Gewinnungsweise und Verpackungsart dieses Hefenpräparates eine Selbstverständlichkeit. Natürlich war auch der daraus gewonnene Macerationssaft dann bakterienhaltig, wenn einfach durch Papier filtriert wird.

Auf kräftige Bakterienwirkungen weisen auch die früher mitgeteilten Beobachtungen von Neuberg und Kerb[2]) hin, daß Hefentrockenpräparate, insbesondere die Trockenhefe nach v. Lebedew, bei der direkten Destillation aminartige Produkte abgeben.

In der Mehrzahl der Fälle handelte es sich um eine Infektion mit säurebildenden Bacillen.

Genauere Untersuchungen verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Dr. G. Michaelis, der uns folgende Daten zur Verfügung gestellt hat.

1. Trockenhefe a. Es sind verschiedene Bakterienformen vorhanden. Leicht gelang die Züchtung eines Stäbchenbacillus. Derselbe hatte folgende Eigenschaften:

Milch wird zum Gerinnen gebracht.

Drigalski-Platte wird gerötet.

Neutralrot-Agar wird unter Gasbildung entfärbt.

Barsiekow-Milchzuckerlösung wird unter Entfärbung und Gasbildung zur Gerinnung gebracht.

Barsiekow-Traubenzuckerlösung wird entfärbt und koaguliert.

Lackmusmolke wird kräftig gerötet.

2. Zugehöriger Saft aus a. Verhalten wie bei Trockenhefe a.

3. Trockenhefe b. Verhält sich wie Trockenhefe a.

4. Zugehöriger aus Saft b. Verhält sich wie Trockenhefe b.

Mit aller Bestimmtheit läßt sich also nachweisen, daß keineswegs die bakterienhemmende Kraft des Hefepreßsaftes aus frischer Hefe, wie sie Buchner[3]) beobachtet hat, auch

[1]) l. c. S. 53.

[2]) C. Neuberg und J. Kerb, diese Zeitschr. 43, 498, 1912; 56, 501, 1913.

[3]) Buchner-Hahn, Zymasegärung, S. 112 bis 114.

dem Macerationssaft aus käuflicher Münchener Trockenhefe zukommt.

Dasselbe Verhalten zeigen übrigens auch andere käufliche Hefentrockenpräparate.

Es soll durchaus nicht bestritten werden, daß man aus selbstbereiteter Trockenhefe auch einen praktisch sterilen Saft gewinnen kann. Ferner ist es eine ganz andere Frage, ob diese Infektion für chemische Versuche eine Bedeutung besitzt. Bei Versuchen über die alkoholische Gärung oder Carboxylasewirkung ist eine bakterielle Infektion wohl meist ohne Belang; Bakterien, die Zucker glatt und schnell in Alkohol und Kohlensäure oder Brenztraubensäure in Acetaldehyd und Kohlendioxyd zerlegen, sind eben bisher nicht bekannt geworden. Ganz anders liegen aber die Verhältnisse bei der Bildung von Milchsäure; denn die Produktion von Milchsäure ist eine weit verbreitete Eigenschaft vieler Bakterien.

In zwei darauf geprüften Ansätzen von Macerationssaft aus Münchener Trockenhefe mit Milchzucker und $CaCO_3$ haben wir aus dem 48 Stunden alten, mit 1 % Toluol digerierten Gemisch einen sauren Ätherextrakt gewonnen, der alle Reaktionen der Milchsäure ergab[1]).

Das zeigt, daß man keinesfalls eine hypothetische antibakterielle Fähigkeit des Macerationssaftes zur Sicherung der Versuchsergebnisse annehmen darf, wie es M. Oppenheimer (l. c. S. 54) tut.

Wir möchten vorläufig der Ansicht von E. Buchner[2]) beipflichten, daß bei stärkeren Milchsäurebildungen „die „Antiseptik mit 2 % Toluol keine genügende war" und „daß lebende Spaltpilze das Resultat sehr beeinträchtigt haben".

Aber selbst wenn durch diese Verhältnisse die Ergebnisse Oppenheimers nicht berührt werden sollten, so scheinen uns seine Schlüsse keineswegs zwingend.

Er sagt (l. c. S. 61): „Die beobachtete weitaus raschere und stärkere Angreifbarkeit des Glycerinaldehyds gegenüber

---

[1]) Da schon überall das Ausgangsmaterial infiziert war, lag zu weiteren Untersuchungen anderer Saftproben kein Anlaß vor.

[2]) Buchner-Hahn, Zymasegärung, S. 206 und 223.

dem Dioxyaceton läßt vielleicht auch den Schluß[1]) zu, daß Glycerinaldehyd ebenso wie beim Zuckerabbau im tierischen Organismus auch bei der alkoholischen Gärung die direkte Vorstufe der Milchsäure ist.

Durch die Tatsache, daß Glycerinaldehyd im Hefemacerationssaft der weitaus stärkere Milchsäurebildner ist, dürfte auch die früher von Embden, Baldes und Schmitz, sowie von Embden und dem Verfasser ausgesprochene Vermutung, daß Dioxyaceton als Hauptquelle der Gärungsmilchsäure in Betracht komme, wesentlich an Wahrscheinlichkeit verlieren."

Es scheint uns eine Verkennung der Sachlage, wenn man vom Glycerinaldehyd als einer direkten Vorstufe der Milchsäure spricht.

Von allen Forschern auf diesem Gebiete ist stets als größte Schwierigkeit die Herleitung des Äthyl- und des Kohlensäurerestes aus der Zuckergruppe empfunden worden. Wie mehrfach betont worden ist[2]), ist die Schwierigkeit prinzipiell völlig die gleiche, ob man von Hexosen oder Triosen ausgeht. Denn nicht in der Depolymerisation, in der Lösung der Aldolbildung zwischen dem dritten und vierten Kohlenstoffatom liegt das Problem, sondern in der experimentellen Herleitung der Gruppe



$$CH_3.CH_2OH \text{ und } CO_2 \text{ bzw. } CH_3.CHOH.COOH$$

aus dem Gebilde



$$COH-(CHOH)_x-CH_2OH \text{ bzw. } H.(CHOH)_x-CO-CH_2OH.$$

Dabei ist es ganz gleichgültig, ob x den Wert 1 oder 4 hat[3])!

---

[1]) Der Verfasser, der l. c. S. 50 so feine Unterschiede zwischen dem Aussprechen einer „Behauptung" und „Vermutung" macht, gelangt also jetzt „vielleicht" zu denselben „Schluß", der früher (C. Neuberg, Monogr. **1913**, S. 23) aus verschiedenen Tatsachen gezogen werden mußte, daß unmöglich ganz allgemein optisch-aktiver Glycerinaldehyd Muttersubstanz der d-Milchsäure in der Natur sei, Dioxyaceton aber die Quelle der d, l-Milchsäure. Übrigens haben seither auch P. A. Levene und G. M. Meyer (Journ. of Biol. Chem. **14**, 150, 1913) einerseits die Unmöglichkeit jener Formulierung betont und andererseits (Journ. of Biol. Chem. **15**, 65, 1913) gerade auf die besondere Gefahr der bakteriellen Beeinflussung der Milchsäurebildung hingewiesen.

[2]) Z. B. Monogr. S. 3.

[3]) Vgl. hierzu auch die klaren Ausführungen Carl Oppenheimers. Fermente, IV. Auflage, S. 689 bis 698, 1913, und in den „Naturwissenschaften" **1914**, S. 78.

Der Fortschritt, der erarbeitet ist, liegt gerade in der Erkenntnis, daß Brenztraubensäure, $CH_3.CO.COOH$, gärbar ist und daß Methylglyoxal, $CH_3.CO.COH$, durch biologische Agenzien in Milchsäure umgewandelt werden kann. Beide lassen sich in verständlicher Weise aus Zuckern herleiten, wie auch im einzelnen der Weg sein mag. Und selbst wenn sich zeigen sollte, daß diese beiden Substanzen bei den physiologischen Abbauprozessen gar keine Rolle spielen, so wird man doch stets auf ähnliche Zwischenformen zurückgreifen müssen. Vorläufig aber hat man allen Grund, beiden Verbindungen die größte Aufmerksamkeit zu widmen. Falls die Angabe von Fernbach und Schoen[1]) sich bewahrheitet, nach der Brenztraubensäure allem Anschein nach bei der Gärung von Zucker abgefangen werden kann, so ist ein neues Argument für die Rolle der Brenztraubensäure beigebracht. Die Angaben von Dakin und Dudley[2]), denen zufolge Milchsäure und Methylglyoxal sich gegenseitig ineinander umwandeln lassen, liefern neue Gesichtspunkte für die Bedeutung des Methylglyoxals.

Die angeführte Behauptung M. Oppenheimers aber, daß Glycerinaldehyd durch Hefepreßsaft direkt in d,l-Milchsäure übergeführt wurde, besagt für das Gärungsproblem gar nichts oder nicht mehr, als die längst bekannte Tatsache der Milchsäurebildung aus verschiedenen anderen Zuckerarten. Wenn in der Regel 11,5%, gelegentlich sogar 28% des zugesetzten Glycerinaldehyds zu Milchsäure werden, so spricht dieses Faktum eher gegen als für eine physiologische Bedeutung des ganzen Vorgangs! Denn bei der natürlichen Gärung des Zuckers entsteht überhaupt keine Milchsäure, und bei der zellfreien treten zwar nicht regelmäßig, aber doch öfters Spuren auf, die sich auf einige Zehntelprozent des angewandten Zuckers belaufen. Man darf wohl berechtigte Zweifel in die verallgemeinernde physiologische Beweiskraft eines Versuchs setzen, der — wie bei M. Oppenheimer — das Mehrhundertfache des Normalen ergibt.

Inwieweit ähnliche Überlegungen für die Bildung von Glycerin aus Triosen zutreffen, wo Oppenheimer das

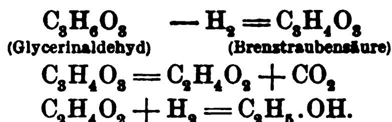
---

[1]) A. Fernbach und M. Schoen, C. 1914, I, 484.

[2]) H. D. Dakin und H. W. Dudley, Journ. of Biol. Chem. 15, 127, 1913.

4 bis 5fache des Normalwerts findet, sei dahingestellt. Jedenfalls erscheint die Bildung von Glycerin aus den Triosen als ein Spezialfall der jetzt zahlreich bekannten Reduktionen aliphatischer und aromatischer Carbonylverbindungen durch Hefe, die bei arteigenem und artfremdem Material stattfindet. (Vgl. den Literaturnachweis auf S. 489 und 477.)

Daß Oppenheimer den springenden Punkt der ganzen Frage umgeht, zeigt auch eine Bemerkung (l. c. S. 66), wo er das Gärungsschema von A. v. Lebedew und N. Griaznoff[1]) bevorzugt. Dieses Schema lautet:



$$\underset{\text{(Glycerinaldehyd)}}{C_3H_6O_3} - H_2 = \underset{\text{(Brenztraubensäure)}}{C_3H_4O_3}$$

$$C_3H_4O_3 = C_2H_4O_2 + CO_2$$

$$C_2H_4O_2 + H_2 = C_2H_5.OH.$$

Wie ersichtlich, klafft auch hier die ominöse Lücke beim Übergang der Triose in Brenztraubensäure. Gerade zu dem Versuch, sie auszufüllen, und um möglichst wenig Annahmen zu machen, haben wir das Methylglyoxal herangezogen. Zehn monomolekulare Formen desselben sind — abgesehen von optischen Antipoden — denkbar! Und wenn sich auch deren biologische Rolle bisher nicht beweisen läßt, so zeigt allein der Umstand, daß sie möglich sind, daß Methylglyoxal wie kaum eine andere Substanz geeignet ist, als ein intermediäres Produkt zu fungieren! Es ist deshalb kein Widerspruch, wie Oppenheimer (l. c. S. 47/48) behauptet, wenn das oder ein Methylglyoxal in ein Schema einbezogen wird, obgleich ein bestimmtes fertiges Methylglyoxal zu vergären nicht sicher gelungen ist. Wohl aber ist es Neuberg wie Dakin und Dudley möglich gewesen, durch Organe und Hefen Methylglyoxal in charakteristischer Weise in Milchsäure umzulagern[2]). Ausdrücklich haben wir überdies betont, daß sich jederzeit neben das Methylglyoxal der Glycerinaldehyd setzen lasse, wenn sein intermediäres Auf-

---

[1]) Ber. **45**, 3270, 1912.

[2]) Unzutreffend ist die Angabe von Oppenheimer (l. c. S. 48), daß nur zwei vereinzelte Versuche von Neuberg für die Bedeutung des Methylglyoxals bei der Milchsäurebildung sprächen. Dakin und Dudley (Journ. of Biol. Chem. **14**, 560, 1913) führen ebenfalls die reichliche Milchsäurebildung aus Methylglyoxal an und stellen überhaupt das Methylglyoxal in den Mittelpunkt der Abbaureaktionen des Zuckers.

treten einmal bewiesen werden sollte. Es erscheint daher seltsam, daß **Oppenheimer** einige Seiten weiter (l. c. S. 66) ganz ähnliche Formulierungen bringt und dabei bemerkt, „im Grunde genommen sind vielleicht alle Reaktionen des Methylglyoxals nichts anderes als solche des Glycerinaldehyds auch und umgekehrt“.

In derselben widerspruchsvollen Weise beschäftigt sich **Oppenheimer** mit unserer Annahme einer Cannizzaroschen Reaktion zwischen zwei verschiedenen Carbonylverbindungen. Er macht die gewiß zutreffende Bemerkung, daß eine solche gemischte Cannizzarosche Reaktion nichts anderes sei als eine gekoppelte Reaktion, und einige Seiten vorher (l. c. S. 60) spricht er prinzipiell die gleiche Annahme für den Abbau der Milchsäure aus, die er über Brenztraubensäure und Acetaldehyd leitet

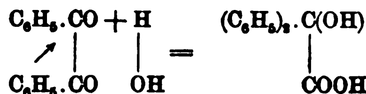
Im übrigen wird **Oppenheimer** erstaunt sein, wenn er unsere früheren Ausführungen[1]) liest, wo ausdrücklich die innere Cannizzarosche Reaktion des Methylglyoxals mit der Benzilsäureumlagerung verglichen wird[2]). Uns scheint die Betrachtung aller dieser Vorgänge vom Standpunkte der Cannizzaroschen Reaktion vorläufig den Vorteil einer einheitlichen Klassifizierung zu bieten, zumal es sich in allen Fällen, wie wir ausdrücklich betont haben und nochmals hervorheben wollen, nur um Arbeitshypothesen handelt, die fallen, sobald bessere vorhanden sind.

Es ist nicht unsere Absicht, in weitere theoretische Erörterungen einzugehen, aber es schien uns geboten, einer undeutlichen Darstellung experimenteller Ergebnisse entgegenzutreten.

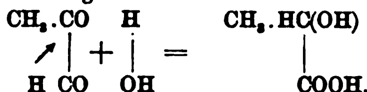
---

[1]) C. Neuberg und J. Kerb, diese Zeitschr. 58, 161, 1913.

[2]) Der Übergang des Diphenylglyoxals (Benzils) in Diphenylglykolsäure (Benzilsäure)



ist in gewissem Sinne analog der inneren Cannizzaroschen Reaktion:



die vom Methylglyoxal zur Methylglykolsäure (d. i. Milchsäure) führt.

Autorenverzeichnis.

